

SÉRIE A, n° 1480
N° D'ORDRE : 2346

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

le Docteur Ram Chandra BHATTACHERJEE

Ph. D. Leipzig

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'Étude bio-chimique du Zinc. Le rôle du Zinc dans la croissance et la vie des animaux. Élimination du Zinc par la Muqueuse de la langue.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1934, devant la Commission d'examen

Président : M. G. BERTRAND.

Examineurs : { M. PORTIER.
M. COMBES.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1934



Digitized by the Internet Archive
in 2026

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

le Docteur Ram Chandra BHATTACHERJEE

Ph. D. Leipzig

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'Étude bio-chimique du Zinc. Le rôle du Zinc dans la croissance et la vie des animaux. Élimination du Zinc par la Muqueuse de la langue.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1934, devant la Commission d'examen

Président : M. G. BERTRAND.

Examineurs : { M. PORTIER.
 { M. COMBES.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1934

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire . . . M. MOLLIARD.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

<i>Professeurs honoraires</i>	H. LE CHATELIER.	LÉON BRILLOUIN.
	H. LEBESGUE.	E. GOURSAT.
	A. FERNBACH.	WALLERANT.
	A. LEDUC.	GUILLET.
	EMILE PICARD.	PÉCHARD.
	Rémy PERRIER.	FREUNDLER.

PROFESSEURS

P. JANET.	T	Electrotechnique générale.	G. BRUHAT	Physique.
G. BERTRAND . . .	T	Chimie biologique.	E. DARMOIS.	Physique
M ^{me} P. CURIE . . .	T	Physique générale.	A. DEBIERNE	Radioactivité.
M. CAULLERY . . .	T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).	A. DUFOUR	T Physique (P. C. N.).
G. URBAIN	T	Chimie générale.	L. DUNOYER.	Optique appliquée.
Emile BOREL. . . .	T	Calcul des probabilités et Physique mathém.	A. GUILLIERMOND T	Botanique (P. C. N.)
L. MARCHIS	T	Aviation.	M. JAVILLIER. . . .	Chimie biologique.
Jean PERRIN	T	Chimie physique.	L. JOLEAUD.	Paléontologie.
H. ABRAHAM	T	Physique.	ROBERT-LÉVY. . . .	Zoologie.
E. CARTAN	T	Géométrie supérieure.	H. MOUTON.	Chimie physique.
M. MOLLIARD . . .	T	Physiologie végétale.	F. PICARD.	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
L. LAPICQUE	T	Physiologie générale.	Henri VILLAT. . . .	T Mécanique des fluides et applications.
E. VESSIOT.	T	Théorie des fonctions et théorie des transformations.	Ch. JACOB.	T Géologie.
A. COTTON	T	Physique.	P. PASCAL.	T Chimie minérale.
J. DRACH.	T	Analyse supérieure.	M. FRÉCHET.	T Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
Charles FABRY. T		Physique.	E. ESCLANGON. . . .	T Astronomie.
Charles PÉREZ. T		Zoologie.	M ^{me} RAMART-LUCAS.	Chimie organique.
LÉON BERTRAND. T		Géologie structurale et géologie appliquée.	H. BÉGHIN	T Mécanique physique et expérimentale.
E. BLAISE.	T	Chimie organique.	FOCH	Mécanique expérimentale des fluides
R. LESPIEAU	T	Théories chimiques.	PAUTHENIER.	Physique (P. C. N.).
P. PORTIER.	T	Physiologie comparée.	De BROGLIE.	T Théories physiques.
E. RABAUD.	T	Biologie expérimentale.	CHRÉTIEN.	Optique appliquée.
P.-A. DANGEARD T		Botanique.	P. JOB	Chimie générale.
V. AUGER	T	Chimie appliquée.	LABROUSTE	Physique du Globe.
M. GUICHARD. . . .		Chimie minérale.	PRENANT	Zoologie.
Paul MONTEL. . . .	T	Mécanique rationnelle.	VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
P. WINTREBERT. T		Anatomie et histologie comparées.	BOHN	Zoologie (P. C. N.).
L. BLARINGHEM. T		Botanique.	COMBES.	Sciences naturelles (P. C. N.)
O. DUBOSCQ.	T	Biologie maritime.	GARNIER	Mécanique rationnelle.
G. JULIA.	T	Mécanique analytique.	PÉRÈS.	Mécanique des fluides.
C. MAUGUIN.	T	Minéralogie.	HACKSPILL	Chimie (P. C. N.).
A. MICHEL-LÉVY		Pétrographie.	LAUGIER.	Physiologie générale.
H. BÉNARD	T	Mécanique expérimentale des fluides.	TOUSSAINT	Technique Aéronautique.
A. DENJOY		Calcul différentiel et calcul intégral.	M. CURIE	Physique (P. C. N.).
L. LUTAUD	T	Géographie physique et géologie dynamique.	G. RIBAUD.	T Hautes températures.
Eugène BLOCH. T		Physique théorique et physique céleste.	CHAZY	Mathématiques.
			GAULT	Chimie (P. C. N.).
			GROZE	Physique.
			DUPONT.	Chimie (P. C. N.).
			LANQUINE.	Géologie.

Secrétaire..... A. PACAUD.

Secrétaire honoraire... D. TOMBECK.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR GABRIEL BERTRAND

Membre de l'Institut
Membre de l'Académie de Médecine
Vice-Président de l'Académie d'Agriculture
Professeur à la Faculté des Sciences
Directeur du Laboratoire de Chimie biologique
à l'Institut Pasteur

*Hommage de respectueuse reconnais-
sance.*

A LA MÉMOIRE DE MES FRÈRES MORTS

A MES FRÈRES

AVANT-PROPOS

La Science est comparable à un Temple où chaque travailleur apporte sa lumière, éclatante ou modeste, pour l'éclairer.

Les grandes découvertes sont ainsi les lampes d'or qui jettent au loin leurs rayons, perçant l'ombre dans les recoins obscurs, et nous permettent de nous avancer plus loin dans la forêt de colonnes du Temple grandiose.

M. Gabriel BERTRAND, l'un des premiers pionniers parmi les savants modernes, dont les découvertes en médecine et en chimie se sont révélées des plus importantes, m'a proposé le travail que nous présentons devant la Sorbonne pour notre thèse de Doctorat ès-Sciences.

J'ai effectué ces recherches sous sa direction, au Laboratoire de Chimie Biologique de l'Institut Pasteur.

Je le prie de trouver ici le témoignage de ma profonde gratitude pour avoir bien voulu m'aider de ses directives.

De mes années passées auprès de ce grand savant, chez qui j'ai rencontré l'élite du monde scientifique

venue puiser aux sources de la Science française, je garderai un souvenir ineffaçable, qui me guidera dans ma vie et m'inspirera le désir de suivre toujours la trace de ceux qu'il m'a appris à connaître et à vénérer : PASTEUR et ROUX.

Contribution à l'Étude bio-chimique du Zinc

Le rôle du Zinc dans la croissance et la vie des animaux
Élimination du Zinc par la Muqueuse de la langue

INTRODUCTION

La Chimie Biologique est une science qui traite des questions d'ordre chimique des processus biologiques de la vie ou, mieux, de l'être vivant.

Du point de vue philosophique, nous ne savons pas encore ce qu'est la vie.

Nous savons seulement qu'elle se manifeste par différents phénomènes tels que : respiration, assimilation, élimination (excrétion et transpiration), croissance et reproduction.

Par conséquent, l'étude des problèmes d'ordre chimique de ces divers phénomènes appartient au domaine de la Chimie Biologique. Le processus alimentaire nous a semblé le plus important, puisque tous les autres dépendent de lui. Depuis le début de l'humanité, et déjà bien avant toute étude scientifique sur l'alimentation, on sait qu'il existe un aliment contenant tous les facteurs nécessaires à la croissance, et qui permet d'entretenir la vie ; c'est le lait, dans le cas du nouveau-né.

Toutes les études scientifiques faites au siècle der-

nier sur l'alimentation sont basées sur cet aliment.

Avec des moyens encore très limités, les chimistes ont essayé de déterminer la composition du lait.

En partant des données de ces chimistes, les physiologistes ont alors recherché les effets des corps chimiques composant le lait sur la croissance des animaux.

A cette époque, on ne comprit pas l'importance de la signification d'un aliment bien équilibré de tous les facteurs qui doivent intervenir synergiquement.

Par conséquent, toutes leurs tentatives sont demeurées infructueuses.

Depuis que WOHLER (1) réussit à synthétiser un corps organique de la cellule vivante en partant d'un corps inorganique, l'esprit des chercheurs fut parfois troublé par cette découverte, qui, après de longues années, amena les savants à penser que tous les éléments présents dans la cellule vivante pouvaient y être apportés par les aliments.

LIEBIG (2), en 1851, dans ses *Nouvelles lettres sur la Chimie*, insiste déjà fortement sur l'importance des principes minéraux dans la nutrition.

Vers la fin du siècle dernier et au début du xx^e siècle, réunissant toutes les données acquises, et poursuivant les recherches en cours, on s'engagea dans une nouvelle voie basée sur la méthode analytique.

L'application de la méthode analytique est une conséquence directe de la découverte de WOHLER. Cette méthode a pour but de rechercher tous les éléments dont se compose l'organisme animal.

Malgré la découverte de la diastase de l'Orge par PAYEN et PERSOZ (3), et leurs observations sur son action catalytique, on ne pensa pas, à cette époque, que les éléments minéraux, présents dans la cellule vivante en quantités infiniment petites, puissent jouer un rôle quelconque dans les processus biologiques et dussent être incorporés par les aliments.

On pensa alors que la présence de ces éléments n'était qu'un hasard et que leur rôle physiologique était nul.

Depuis, la notion de l'action catalytique s'éclaira de jour en jour, par son application fréquente en chimie générale.

La présence de certains éléments, en quantités infimes, préoccupa parfois l'esprit des bio-chimistes.

La découverte, par G. BERTRAND (4), de la présence du Manganèse en quantités infiniment petites, et son rôle dans le laccase, mit au point le rôle physiologique des *infiniment petits chimiques*.

Cette découverte ouvrit un nouveau chapitre de la Chimie Biologique, avec la notion des « *co-ferments* ».

Ce grand savant, en étudiant le latex du *Rhus succedanea* du Tonkin, isola une substance qu'il appela laccase et qui a la propriété de fixer l'oxygène atmosphérique, soit sur un constituant du *latex de laccol*, soit sur des composés bien définis chimiquement, comme l'hydroquinone, la pyrocatechine, le parami-dophénol, le pyrogallol, etc.

A la suite de recherches nombreuses et minu-

tieuses, ce savant a démontré que l'activité de ce ferment soluble était due à la présence de traces du Manganèse, à qui il donna le nom de « co-ferment » et qui forme avec le ferment un système véritablement actif. Le même savant démontra également que le Manganèse n'était remplaçable par aucun autre métal.

Cette nouvelle notion établit l'importance physiologique du Manganèse et définit le rôle qu'il remplit chez les êtres vivants. « La portée de cette conclusion » écrit G. BERTRAND », dirige en effet l'attention « sur toute une série de corps qui pouvaient passer « jusqu'ici comme secondaires, parce qu'ils sont peu « abondants, comme le Manganèse, et qu'on ignore « leur signification physiologique, par exemple le « Zinc, illustré par l'expérience de RAULIN; le Bore « dont les recherches de PASSERINI et surtout de JAY « ont démontré la présence si générale chez les « plantes. »

Guidé par ces nouvelles conceptions, G. BERTRAND (5) étudia l'action du Manganèse sur le développement de l'*Aspergillus niger*. Il résulte de ces expériences que le Manganèse, même à la dilution infinitésimale de $\frac{1}{10.000.000.000}$ exerce une influence favorisante sur cette moisissure.

En 1909, M. G. BERTRAND (9) pensa que les « infiniment petits chimiques » jouent un rôle spécifique dans les processus biologiques, et que leur influence doit être cumulative, c'est-à-dire que, si on ajoute à

la fois dans le milieu nutritif deux ou trois éléments du groupe « infiniments petits chimiques », on doit obtenir des augmentations de récolte supérieures à celle que donne l'addition d'un seul métal.

Dans cet ordre d'idées, il entreprit des recherches avec M. JAVILLIER (6) qui avait établi entre temps, en répétant les expériences de RAULIN, l'influence favorable de très petites quantités de Zinc (au-dessous de 0 gr. 0001) sur le développement du *Stérimatocystis niger*.

Ils choisirent l'*Aspergillus niger* comme sujet d'expériences et, comme éléments, le Manganèse et le Zinc.

De leurs expériences, il résulte que de petites quantités de Zinc ou de Manganèse, ajoutées au liquide de culture de l'*Aspergillus niger*, permettent l'obtention de récoltes supérieures en poids à celle que fournit le même milieu dépourvu de ces éléments.

G. BERTRAND écrit alors : « Ce résultat s'explique en admettant que le Zinc et le Manganèse présents chez les végétaux sont des éléments indispensables au fonctionnement intégral de la cellule ; qu'ils interviennent dans les transformations, dont la plante est le laboratoire, comme des réactifs catalytiques grâce auxquels s'élaborent, au moins en partie, les principes immédiats. Ces recherches classiques ont démontré que l'influence du Manganèse est plus nette encore lorsqu'il est associé au Zinc que lorsqu'il est seul. BERTRAND écrit « les résultats que nous venons

« de rapporter doivent avoir une portée générale, ils
« se renouvelleront sans doute avec d'autres éléments
« que le Zinc et le Manganèse, avec des végétaux plus
« élevés en organisation que l'*Aspergillus niger*. Ils
« tendent à montrer que le Zinc et le Manganèse ne
« sont pas de simples excitants énergétiques du pro-
« toplasma. Le Zinc et le Manganèse ne peuvent être
« que des éléments actifs, des intermédiaires indis-
« pensables aux transformations chimiques dont la
« cellule vivante est le siège. »

Pour mettre en évidence la nécessité du Zinc et ses effets physiologiques, JAVILLIER (7) a étudié l'influence de la suppression du Zinc du milieu de culture de l'*Aspergillus niger*. Il a démontré qu'il existe un rapport entre le Zinc et la sécrétion de sucrase. La quantité sécrétée à l'unité de poids de la plante est notablement plus petite qu'en présence de Zinc et la diastase disparaît rapidement du *mycelium*.

En présence de tous ces faits, et guidé par la conception de CLAUDE BERNARD sur l'unité de la cellule végétale et animale, G. BERTRAND avait supposé que le Zinc joue un rôle dans les échanges nutritifs et le développement de l'organisme animal.

Cette idée était renforcée par le fait que MM. G. BERTRAND et VLADESCO, (9) en étudiant la teneur en Zinc chez les animaux, ont trouvé, qu'une Souris adulte ne renferme pas plus de quelques dixièmes de milligrammes de ce métal, dont un dixième seulement est apporté à la naissance.

En 1923, M. G. BERTRAND, en collaboration avec

BENZON (10) a essayé de mettre directement en évidence le rôle du Zinc. Craignant d'introduire, avec les vitamines, la petite quantité de Zinc nécessaire à la croissance, les auteurs ont employé des aliments synthétiques fortement carencés en vitamines. Depuis, la chimie des vitamines a fait de grands progrès et la notion de leur mode d'action s'éclaircit de jour en jour. Malgré l'impossibilité, à l'heure actuelle, de considérer les vitamines comme ferments à cause de leurs propriétés physiques et chimiques, certains faits précis indiquent que leur rôle physiologique est semblable à l'action catalytique. De plus, si on considère que la vitamine B est toujours associée au Zinc dans les tissus végétaux et animaux, il est assez naturel d'envisager l'hypothèse qui ferait du Zinc un « co-ferment ».

L'importance physiologique comparée du Fer et du Zinc chez la Souris est nettement établie par M. G. BERTRAND et NAKAMOURA (8). On peut considérer leurs expériences comme une démonstration directe du rôle joué par le Fer dans l'alimentation, elles fournissent une preuve nouvelle de l'importance physiologique du Zinc.

En partant de cette hypothèse, nous avons effectué les expériences nécessaires pour mettre en évidence ce rôle du Zinc, qu'il tient dans le jeu de l'économie animale.

L'étude de certains phénomènes physiologiques, liés d'une manière étroite au processus biologique encore inconnu qui règle l'assimilation, l'utilisation

et le métabolisme des principes nutritifs, exige la connaissance des règles à observer pour la constitution des régimes synthétiques. Nous avons donc utilisé une nourriture contenant tous les éléments plastiques, comme C, H, O, N, P, S, Cl, Ca, Mg, K et Na, dans des proportions nécessaires et dans des formules différentes, comme protéides contenant les acides aminés assimilables ainsi que les glucides et les lipides. A ces matières, contenant tous les éléments plastiques, nous ajoutons les éléments catalytiques, comme Fe, Mn, Cu, Fl, Br, Al et I, la présence indispensable de ces facteurs dans le régime alimentaire ayant déjà été démontrée par plusieurs auteurs. De plus, nous avons ajouté tous « les facteurs de croissance », connu sous le nom de vitamines, additionnés ou non d'une très petite quantité 10 mgr. de Zinc à l'état de sulfate pour 100 gr. de matière du régime synthétique. Cette petite quantité de l'élément catalytique est très importante parce que l'organisme animal est peut-être plus sensible aux substances bio-génétiques à doses infiniment petites qu'à des doses plus élevées.

Cette méthode synthétique et biologique, complétée par l'analyse quantitative, nous a donné des renseignements précieux sur le rôle du Zinc comme « infiniment petit chimique ».

Dans la deuxième partie de notre thèse, nous avons essayé d'apporter une nouvelle confirmation à l'hypothèse émise par M. G. BERTRAND, que la langue — principal organe du goût et de la parole — possède

également une nouvelle fonction physiologique : celle de l'élimination des éléments dont l'organisme animal n'a pas besoin.

Cette hypothèse est basée sur les observations suivantes :

MM. G. BERTRAND (11) et MEDIGREGENAU, en dosant le Manganèse dans des organes animaux, ont noté que le muscle de la langue est plus riche en Mn que le muscle du tronc et des membres et que les muqueuses contiennent plus de Manganèse que les tissus musculaires sous-jacents. Le tableau suivant montre les résultats qu'ils ont obtenus.

Pour 100 gr. de matière fraîche

Bœuf	0,020 muscle seul
Bœuf	0,128 muqueuse totale
Mouton	0,160 muscle seul
Mouton	0,059 muqueuse totale
Cheval	0,090 muscle seul
Cheval	0,022 muqueuse totale
Porc	0,019 muscle seul
Porc.....	0,032 muqueuse totale avec beaucoup de muscle adhérent

Dans les tissus musculaires ils ont trouvé de 0 mgr. 005 à 0 mgr. 018 de Mn.

En dosant l'Étain dans différents organes des animaux, G. BERTRAND et CIUREA (12) ont trouvé que la langue contient une très notable quantité de ce métal.

Par kgr. de matière fraîche

	Bœuf	Mouton
Langue (muscle).....	12.20	16.45
Langue (muqueuse).....	18.65	26.11

Dans les muscles ordinaires, ils ont seulement trouvé de 1 mgr. 54 à 1 mgr. 86 par kilogramme de matière fraîche.

En dosant le Plomb, ils ont noté (par kilogramme de matière fraîche) :

	Bœuf	Mouton
Langue (muscle).....	0.82	2.30
Langue (muqueuse).....:	2.33	3.20

Dans les muscles ordinaires ils n'ont pas pu déceler le plomb.

Nous avons dosé le Zinc dans les muscles et les muqueuses de la langue de 4 animaux d'espèces différentes. Pour avoir un terme de comparaison, nous avons également dosé le Zinc contenu dans les muscles du cou de ces animaux.

Pour nos dosages, nous avons employé la méthode du zincate de calcium, décrite dans la partie analytique de notre thèse.

Les résultats que nous donnons dans notre travail confirment l'hypothèse que la langue possède, en plus de ses fonctions déjà connues, une troisième fonction physiologique, celle de l'élimination.

PARTIE HISTORIQUE

Recherches antérieures sur le rôle physiologique du Zinc chez les êtres vivants.

Dans ce chapitre, nous passerons brièvement en revue les études statiques d'abord, c'est-à-dire les recherches génératrices de l'idée que le Zinc peut être un des éléments qui jouent un rôle biologique quelconque chez les êtres vivants.

Ces recherches, dans lesquelles la présence du Zinc dans les cellules vivantes fut mise en évidence, sont d'ordre purement analytique.

Nous discuterons ensuite les études dynamiques, c'est-à-dire les recherches entreprises en vue d'établir la nécessité absolue du Zinc pour la croissance de l'être vivant et le maintien de la vie.

Études statiques du Zinc dans le règne végétal.

BELLINGRODT (13) signale, en 1854, la présence du Zinc chez les plantes calaminaires, découverte confirmée en 1865 par RISSE.

FORSHAMMER (14) en 1894, le trouve dans les plantes marines (*Fucus*).

LECHARETIER et BELLAMY, (15) en 1877, démontrent qu'il y a des traces de Zinc dans les grains de Blé, de Maïs, d'Orge, dans la Vesce d'hiver, ainsi que dans les Haricots blancs de Naples.

L'analyse spectrale permet à DEMARCAY (6) (1910) de déceler la présence du Zinc dans le bois du Pin sylvestre, d'Épicéa, de Vigne, de Chêne et de Peuplier.

Parmi les travaux récents, citons ceux de MM. G. BERTRAND et JAVILLIER, de BICKNER, de MM. G. BERTRAND et BENZON et de HUBBEL et MENDEL.

JAVILLIER (16) dose le Zinc dans une cinquantaine de plantes appartenant à 44 espèces choisies parmi 30 familles. Il note sa présence, en proportions variables, dans tous les organes de la plante et remarque que les conifères sont plus riches en Zinc que les angiospermes.

BIRCKNER (17) en 1919, dose le Zinc dans quelques aliments d'origine végétale : Blé, Seigle, Orge, Avoine, Carotte, Riz, Maïs, petits Pois, Soja, son de Blé, levure de boulangerie.

En 1923, MM. G. BERTRAND et BENZON (18) dosent le Zinc sur 111 échantillons de tissus végétaux appartenant à 87 espèces choisies parmi 28 familles (surtout des plantes alimentaires). Ils signalent sa présence chez tous ces végétaux, à la seule exception de la Noix de coco.

En ce qui concerne la teneur en Zinc des différents

organes des plantes, ces auteurs remarquent que les graines sont les organes végétaux les plus riches en ce métal ; que les céréales en contiennent moins que les légumineuses et que, dans les grains des céréales, ce sont les téguments et les embryons qui contiennent presque tout le métal, la partie comestible en étant presque dépourvue.

Ils constatent également que les feuilles sont, après les graines, les organes les plus riches en Zinc.

De plus ils démontrent que les tissus de soutien, ainsi que les tissus parenchymateux, sont pauvres en Zinc.

Ceci s'étend aux racines qui sont, en général, plus riches en cendres que les parties aériennes.

En 1927, HUBBEL et MENDEL (19) décèlent ce métal dans les aliments suivants : Pois, Carottes, Betteraves, Choux, Laitues, et l'amidon du Blé.

En 1933, M. G. BERTRAND et Mlle ANDRIETCHEVA (20) signalent que les feuilles vertes sont plus riches en Zinc que les feuilles étiolées.

Etudes statiques du Zinc dans le règne animal.

Plusieurs auteurs ont signalé la présence du Zinc dans les tissus animaux, mais les travaux systématiques sur ce sujet ont été commencés depuis les recherches de GHIGLIOTTO (21).

En 1877, LECHARETIER et BELLAMY (22), en appliquant les méthodes anciennes, découvrent le Zinc dans le foie d'un homme mort de la fièvre typhoïde

et dans celui d'un phtisique (20 mgr. de Zinc par kilogramme).

Des traces de Zinc ont été relevées par les mêmes auteurs dans le muscle du Bœuf et dans l'œuf de la Poule.

Dans la même année, RAOULT et BRETON (23) ont vérifié la présence du Zinc dans les viscères des animaux et dans le foie pathologique humain.

En 1904, BRADELEY (24) trouve du Zinc dans des cén-dres de mollusques.

De 1912 à 1914, VAN ITALLIE et VAN EYCKE (25), au cours de leurs recherches sur l'arsenic dans le foie de l'homme, remarquent la présence du Zinc dans cet organe.

En opérant sur 24 foies, provenant de sujets d'âge et de sexes divers, ils eurent la confirmation de leur découverte.

GHIGLIOTTO (26) put doser le Zinc sur des échantillons de 222 viscères qui, sans exception, contenaient de 9 à 11 mgr. de Zinc pour 600 gr. d'organe.

Il chercha alors à mettre ce métal en évidence dans le fœtus, le lait de Vache ainsi que chez les poissons et put constater que le Zinc est un élément normal de l'organisme animal.

En 1919, DELEZENNE, en appliquant la méthode de dosage de BERTRAND et JAVILLIER, analysa un grand nombre d'organes d'espèces très diverses et, dans tous les cas, trouva du Zinc.

Dans le sang des mammifères il ne signala que de petites quantités de métal (20 mgr. par kgr. de sang,

1/10 dans le plasma, et 9/10 dans les globules).

Chez les oiseaux, la concentration du sang en Zinc est plus grande.

Dans les tissus des mammifères, il put doser jusqu'à 110 mgr. de Zinc par kilogramme de matière. De plus, il démontra que les organes les plus riches en Zinc sont les centres nerveux, les thymus, et les phanères.

Il trouva également du Zinc dans les sécrétions salivaires.

Chez les oiseaux et les reptiles, il démontra que le foie est plus riche en Zinc que les muscles.

D'après cet auteur, les invertébrés paraissent avoir une plus grande teneur en Zinc que les mammitères. Enfin, il signala la présence de Zinc chez les insectes.

BIRCKNER (27), en 1919, en dosant séparément le Zinc dans le jaune, le blanc et la coque de l'œuf, constata que tout le métal est contenu dans le jaune. D'après lui, le lait de femme serait plus riche en Zinc que celui de la Vache.

En 1915, ELLIOT (28) dosa le Zinc contenu dans l'eau qui se trouve à l'intérieur de la coquille des mollusques. Cette eau, quoique moins riche en Zinc que la substance des Huîtres, en contient néanmoins en quantité assez élevée.

En 1920, GIAYA (29) rechercha la présence du Zinc dans les organes de l'Homme, du Lapin, du Chien et du Cobaye. Il le trouva dans tous les organes du corps humain et des animaux étudiés.

En 1921, MM. G. BERTRAND et VLADESCO (30) ont

dosé le Zinc sur 250 échantillons de divers organes de différents animaux.

De leurs expériences, on peut conclure que :

1^o Le Zinc se rencontre chez tous les animaux et dans tous les tissus d'un même animal ;

2^o Sauf les Huîtres, qui sont exceptionnellement riches en Zinc, tous les autres animaux possèdent des quantités comparables de ce métal ;

3^o Chez la même espèce, la teneur en Zinc est très variable. Entre autres facteurs, l'âge possède une influence manifeste :

4^o Chez le Lapin, la teneur en Zinc va en diminuant depuis la naissance jusqu'au vingt-cinquième jour au moins ;

5^o La répartition du Zinc dans les organes d'individus appartenant à la même espèce n'est pas toujours la même ;

6^o Parmi les organes les plus riches en Zinc, le foie, la peau, et les productions cutanées sont les moins soumises aux oscillations quantitatives de ce métal ;

7^o Le liquide spermatique et quelques-unes des glandes annexes de l'appareil génital mâle sont très riches en Zinc, du moins pendant leur activité fonctionnelle ;

8^o Dans les cas d'intoxications, le Zinc s'accumule de préférence dans les os et dans les muscles.

En 1926, HUBBEL et MENDEL ont dosé le Zinc dans les produits alimentaires d'origine animale suivants :

le lait, la caséine, l'huile de foie de Morue, l'Huître, le jaune d'œuf et la levure.

Dans l'Huître et dans la caséine, ils ont noté une quantité assez élevée de Zinc, 412 et 319 mgr. par kilogramme.

Étude dynamique du Zinc chez les végétaux.

Pour mettre en évidence le rôle physiologique d'un élément ou d'un corps chimique, on a recours à la méthode synthétique.

L'expérimentation a lieu, soit sur des sujets végétaux, avec un milieu de culture de composition connue, soit avec des sujets animaux recevant des aliments synthétiques de composition bien définie et suffisante pour le développement et la conservation de la vie.

L'adjonction ou la suppression arbitraire d'un des éléments du milieu de culture ou des aliments permet de saisir le rôle de cet élément.

Cette méthode synthétique est devenue classique depuis que PASTEUR a réussi à cultiver la levure sur un milieu artificiel.

Expériences antérieures avec les végétaux.

RAULIN, guidé par l'esprit de PASTEUR, (31) commença à étudier le rôle des différents éléments chimiques, à des doses extrêmement faibles, dans le phénomène de la croissance et de la vie,

Comme sujet d'expérience, il choisit l'*Aspergillus niger* ou *Sterigmatocystis nigra*. Il prépara le milieu de culture suivant : eau, sucre, acide tartrique, nitrate d'ammoniac, acide phosphorique (ammonium phosphate) potasse, magnésie et acide sulfurique (sulfate d'ammoniaque).

Au cours de ses recherches il constata que, dans des conditions expérimentales peu rigoureuses, où les sels n'étaient pas purifiés, et où le vase était de poterie grossière, la récolte de cette moisissure était abondante. Mais quand il perfectionna sa technique, en n'employant que des corps purs et des cuvettes de porcelaine, la récolte baissa singulièrement.

Il en conclut qu'il fallait ajouter quelques autres éléments aux constituants de son milieu de culture. Après de nombreuses expériences, il constata que l'adjonction de certains sels et notamment du Zinc, faisait monter le rendement de la récolte dans des proportions très grandes par rapport à la quantité de métal ajoutée.

Cette remarquable observation de RAULIN, dans sa thèse de doctorat en 1870, est le premier travail qui établit nettement l'utilité du Zinc dans le phénomène de la croissance des cellules végétales et c'est à lui que revient le mérite d'avoir découvert le rôle physiologique du Zinc chez les êtres vivants, car les nombreux travaux publiés auparavant par KNOP (32), GORUP-BESANEZ (33), REICHHARDT (34) et FREITAG (35), sur l'influence des combinaisons du Zinc sur les plantes vertes, sont d'ordre plutôt pratique.

Ils ont eu pour but de déterminer si les sels de Zinc sont fixés par le sol, s'ils sont absorbés par les plantes et s'ils sont nuisibles pour eux.

Dans un but de vérification, COUPIN (36), en 1903, reprit les expériences de RAULIN dans des conditions expérimentales plus rigoureusee. Il substitua des ballons aux cuvettes plates, des milieux stériles à des milieux qui ne l'étaient pas.

Au cours de ses expériences, il constata que l'adjonction de Zinc à des milieux stériles n'exerçait aucune action sur le développement du *Sterigmato-cystis nigra*. Il en conclut que ce métal ne présente pas d'utilité dans la nutrition de cette plante.

Il explique cette divergence de vues en admettant que, dans l'expérience de RAULIN, le sulfate de Zinc, agissant en tant qu'antiseptique, empêchait le développement des organismes étrangers et favorisait ainsi celui du *Sterigmatocystis nigra*.

En 1907, pour arriver à une conclusion nette, M. JAVILLIER (37) reprit cette question. Il retint comme sujets d'expériences, non seulement l'*Aspergillus niger*, mais aussi la levure et un végétal d'ordre supérieur : le Blé.

Une technique très rigoureuse lui permit d'observer que, si de très petites quantités de Zinc (au-dessous de 0 gr. 0001) semblent exercer une action favorable sur le développement des végétaux, l'adjonction de quantités plus fortes (0 gr. 01) produit une influence nocive.

Les faits les plus intéressants qui se dégagent des travaux de cet auteur, sont les suivants :

1^o Dans un milieu sans Zinc le poids de la récolte de l'*Aspergillus niger* est très faible ;

2^o L'adjonction de Zinc au milieu de culture fait augmenter le poids de la récolte.

De plus, cet auteur constata que l'action du Zinc sur le développement de l'*Aspergillus niger* peut s'exercer de quatre façons différentes.

Dans le premier cas, où l'introduction du Zinc correspond à des doses extrêmement petites, ne dépassant pas $\frac{1}{10.000.000}$, la mucédine acquiert un poids progressivement croissant jusqu'à ce qu'elle ait atteint son poids maximum.

Il constata que ces doses infinitésimales sont nécessaires au développement de la plante.

Le deuxième cas se réalise en présence de doses de Zinc allant de $\frac{1}{10.000.000}$ à $\frac{1}{25.000}$.

Ces doses sont reconnues utiles, puisque la mucédine fixe la totalité du métal qui lui est offert ; elles sont supérieures pourtant à la dose strictement nécessaire pour que le mycélium atteigne son poids maximum.

Le troisième cas se présente lorsque les doses du Zinc s'étagent du $\frac{1}{250.000}$ au $\frac{1}{25.000}$, l'*Aspergillus niger* végète normalement mais ne fixe plus qu'une partie

du métal. Il y a donc un excès par rapport aux doses utiles, mais cet excès n'est pas toxique.

Dans le dernier cas, les doses de Zinc sont supérieures au $\frac{1}{25.000}$, doses toxiques.

Appliquée à une plante phanérogame, telle que le Blé, cette expérience donna les mêmes résultats.

Devant ces données, M. JAVILLIER conclut que le Zinc se comporte comme un élément actif indispensable au jeu de certaines réactions biologiques, comme un agent catalytique.

A la suite de G. BERTRAND, il fit remarquer que les verres renfermant du Zinc sont susceptibles d'en céder au milieu de culture une quantité suffisante pour exercer une action favorable sur le développement de la plante, et il interpréta les résultats de COUPIN en admettant que cet auteur introduisit de cette façon, ou très probablement par les sels, deux à trois centièmes de milligramme de Zinc dans son milieu de culture.

En 1914, MAZÉ (38) a démontré que, pour la croissance du Maïs en milieu synthétique liquide, la présence d'une trace de Zinc est indispensable.

En ce qui concerne la question de la spécificité de l'activité favorisante du Zinc, Charles LEPIERRE (39), en 1913, constata que le cadmium, le glucinium, l'uranium et le Cuivre peuvent se substituer au Zinc au même titre.

Pour trancher la question de la spécificité de l'action favorisante du Zinc, JAVILLIER (40). en expéri-

mentant avec une cinquantaine d'éléments, a démontré qu'aucun d'eux ne peut remplacer le Zinc.

Toutes les expériences de M. JAVILLIER montrent l'action favorable du Zinc, mais n'expliquent pas le mécanisme de ce rôle dans le phénomène de la croissance de la cellule vivante.

Pour serrer la question de plus près, M. JAVILLIER (41) envisagea une hypothèse qui faisait du Zinc le complément de quelque action diastasique, quelque chose d'analogue à la relation qui existe entre le Manganèse et la laccase. Il réussit à démontrer qu'il existe effectivement un rapport entre le Zinc et la sécrétion de la sucrase.

Recherches sur le rôle physiologique du Zinc dans les tissus animaux.

Nous avons dit plus haut que JAVILLIER a réussi à mettre en évidence le rôle du Zinc sur la production de sucrase dans les cellules végétales.

D'un autre côté, DELEZENNE (42) a établi définitivement le rapport existant entre la teneur en Zinc du venin de Serpent et l'intensité de l'action diastasique.

Cet auteur a constaté que l'activité du venin, appréciée suivant l'intensité de l'hémolyse qu'il produit en présence de sérum sanguin ou de la lécithine, est proportionnelle à la richesse en Zinc.

En collaboration avec MOREL (43), il observa également que le venin de Serpent a la propriété de dédoubler l'acide nucléique de la levure en acide

phosphorique et nucléoside et que l'intensité de ce dédoublement est en rapport avec la teneur du venin en Zinc.

Fait curieux, les mêmes auteurs n'ont pu obtenir le phénomène du dédoublement ni avec aucun sel de Zinc ni avec le Zinc colloïdal.

En conséquence, DELEZENNE a caractérisé le rôle du Zinc dans le venin comme un « co-ferment ».

Enfin, l'action oligodynamique du Zinc sur les cultures de tissus *in vitro* a été étudiée par VERNE et SANNIÉ en 1930.

Ces auteurs ont conclu qu'« aucune culture ne pousse aux concentrations N/750 et N/3.000 (1 p. 5.200 et 1 p. 21.000). Ce n'est que lorsque le milieu de culture contient une concentration de N/4.5000 (1 p. 32.000) seulement qu'apparaissent l'émigration et les mitoses.

Si, par contre, on plonge le fragment à repiquer dans une solution de Ringer zincique, on peut déjà observer un commencement d'émigration à des concentrations N/2000 (1 p. 14.000).

Tout récemment, MOUSSERON et FAUROUX ont observé que la teneur en Zinc croît assez régulièrement avec le pouvoir nucléolytique des Champignons et que ce métal est nettement plus abondant chez les Champignons hémolytiques. Ces résultats paraissent avoir une analogie frappante avec ceux qu'a obtenus DELEZENNE dans son étude sur le venin de Serpents.

Etude dynamique du Zinc chez les animaux.

Le premier travail systématique pour mettre en évidence le rôle physiologique du Zinc dans l'organisme animal a été fait en 1923 par MM. G. BERTRAND et BENZON. En se basant sur les études dynamiques, dans le rôle végétal, ils ont envisagé l'hypothèse que le Zinc est indispensable pour la croissance des animaux. Ils ont étudié comparativement la croissance des Rats et des Souris blanches, au moyen de régimes synthétiques avec ou sans addition de Zinc.

Un de ces régimes était rigoureusement dépourvu de Zinc, l'autre était additionné de très petites quantités de Zinc. Au cours de leurs expériences, ils ont constaté que les Souris blanches, nourries avec les régimes privés de Zinc et fortement carencés de vitamines, cessèrent généralement de croître après une semaine. Elles manifestèrent, après une dizaine de jours, des symptômes caractéristiques de la polynévrite. Au bout de deux semaines, elles succombèrent, tandis que l'adjonction de Zinc prolongea la vie des animaux jusqu'à quatre semaines.

D'après ces résultats, ils conclurent que le Zinc est un élément indispensable au développement et à la vie des animaux.

Néanmoins, si leurs expériences indiquaient nettement l'action favorable du Zinc sur la croissance des animaux, il n'était pas possible à ces auteurs de con-

clure définitivement que cet élément est indispensable à la croissance et à la vie des animaux, de ce fait que leurs régimes étaient complètement dépourvus de toutes les vitamines incontestablement reconnues comme facteurs de la croissance.

En 1926, M. HARGUE (44) a essayé de mettre en évidence le rôle du Zinc, en tant que facteur de croissance, chez les animaux. Il prit les Rats comme sujets d'expériences et utilisa une nourriture synthétique très pauvre en Zinc contenant : fécule de Blé, Caséine du commerce, Sucre de canne et Saindoux. Il constata que l'addition de très petites quantités de Zinc (25 p. 1.000 de matière sèche) était favorable à la croissance du Rat.

Il est à remarquer que son régime était fortement carencé en vitamines.

De plus, il n'a pas même tenté d'éliminer au préalable le Zinc contenu dans les aliments, se contentant d'ajouter de petites quantités de Zinc à celles existant normalement dans tous les produits commerciaux non purifiés, qui constituaient son régime. De ce fait, le régime du lot d'animaux témoins n'était pas qualitativement très différent du régime de l'autre lot. Dans de telles conditions il est presque impossible d'arriver à une conclusion.

En 1927, HUBBEL et MENDEL (45) reprirent les expériences sur des Souris blanches, avec quatre régimes différents :

Régime I, contient :

Caséine.....	31 %
Amidon de grains.....	38 %
Matière grasse (crisco).....	21 %
Huile de foie de Morue.....	3 %
Mélange de sels.....	7 %

100 mgr. poudre de levure par Souris et par jour.

Régime II :

Caséine (pauvre en Zinc).....	31 %
Amidon (sans Zinc).....	40 %
Saindoux.....	22 %
Mélange de sels.....	7 %
Huile de foie de Morue concentrée...	0, 03 %

100 mgr. de poudre de levure par Souris et par jour.

0,005 mgr. de Zinc par Souris et par jour.

Régime III :

Composé du régime II + 0 mgr. 02 Zn par Souris et par jour.

Régime IV :

Composé du Régime II + 0 mgr. 04 Zn par Souris et par jour.

Ils purent constater qu'avec des régimes très pauvres en Zinc il y a un arrêt de la croissance. Le régime III exerça une influence favorable sur la croissance, surtout chez la Souris femelle. Avec le régime IV, les résultats n'étaient pas nets : dans quelques cas on remarqua un arrêt, dans d'autres cas un progrès de la croissance.

Aucun de ces régimes ne produisit de polynévrites. Ces auteurs ont conclu que l'addition de 0 mgr. 02

de Zinc par Souris et par jour exerce une influence favorable positive sur la croissance.

Ces recherches, comme celles de HUBBEL et MENDEL et de Mc HARGUE, ne sont pas non plus absolument concluantes, puisqu'aucun régime sans Zinc ne permet la comparaison avec les régimes contenant du Zinc.

Recherches personnelles.

Choix d'un animal d'expérience et composition de l'alimentation synthétique.

En biologie animale, l'emploi des animaux tels que le Rat blanc, le Pigeon, le Cobaye et la Souris blanche, ainsi que l'utilisation des régimes artificiels, se sont généralisés depuis 20 ans et ont énormément facilité l'étude de certaines questions de physiologie de la croissance. Notre choix s'est arrêté sur la Souris blanche, les rongeurs étant, parmi les mammifères, les animaux qui conviennent le mieux : leur petite taille, la facilité avec laquelle ils s'adaptent aux différents régimes, leur grande résistance, les rendent très précieux comme sujets d'expérience.

Des régimes artificiels doivent, de plus, être constitués, de telle sorte qu'ils produisent invariablement les mêmes effets pendant toute la durée de l'expérience.

Nous avons donc voulu avoir à notre disposition une nourriture artificielle qui se rapproche de la nourriture naturelle de la Souris et qui renferme tous les principes nutritifs nécessaires, sauf un seul élément, un métal, afin de rechercher si l'organisme animal

peut survivre en l'absence d'une substance inorganique déterminée, et si la présence de cette substance minérale, en quantité infiniment petite, peut exalter les fonctions physiologiques, telle que la croissance, et le maintien de la vie.

La Souris blanche, quoique omnivore, se nourrit principalement de grains de Blé. La composition chimique du grain de Blé, d'après OSBORNE et MENDEL, est la suivante ;

Saccharose.....	0,61 %
Dextrine.....	2,01 %
Amidon.....	63,80 %
Pentosane.....	6,27 %
Protéine.....	11,25 %
Fibre.....	1,75 %
Graisse.....	2,18 %
Cendres.....	2,03 %
Indéterminé.....	10,10 %

Le régime que nous avons adopté pour nos recherches se rapproche le plus possible de la composition du grain de Blé et est le suivant :

Fécule de Pomme de terre.....	73 %
Caséine.....	13 %
Cellulose.....	5 %
Lactose.....	2,50 %
Beurre de coco.....	2,50 %
Lactate de calcium + 5 H O.....	2,50 %
Phosphate disodique crist.....	0,75 %
Chlorure de calcium anhydre.....	0,10 %
Carotène (par jour par animal). 0 mg. 005 à 0 mg. 01	
Ergostérol irradié. 1 millièrme de mgr. par jour et par Souris.	

Vitamines B¹ + B² de SEIDELL. 0 mgr. 5 à 1 mg. (par jour et par animal).

Sulfate de Magnésium.....	0,25	%
Alun ferricoammonique.....	0,02	%
Alun aluminicopotassique.....	0,004	%
Fluorure de sodium.....	0,004	%
Sulfate de Cuivre.....	0,002	%
Sulfate de Maganèse.....	0,002	%
Iodure de potassium.....	0,0005	%
Bromure de potassium.....	0,0005	%
Chlorure de Nickel.....	0,01	%
Chlorure de Cobalt.....	0,01	%

Nous avons ajouté à la formule que M. G. BERTRAND et Bojé BENZON (46) ont utilisée pour leurs expériences sur les animaux, les sels de Nickel, de Cobalt et les vitamines, dont la nécessité dans la nourriture des animaux est définitivement établie par les travaux de M. Gabriel BERTRAND et de NAKAMURA (47) d'une part, et d'OSBORNE et MENDEL (48), Mc. COLLUM et DAVIS (49), HOLST et FROHLICH (50), FUNK (51), MELLANBY (52) et d'autres, d'autre part.

On voit que notre régime alimentaire contient les quatre catégories de principes alimentaires suivants :

I. — Les principes exogènes, représentant les matériaux bruts des synthèses intraorganiques essentielles et qui ont, par conséquent, un rôle plastique, le rôle de maintenir la structure caractéristique de l'espèce. Ce sont :

a) Des éléments minéraux indispensables tels que l'oxygène, hydrogène, carbone, azote, phosphore,

chlore, soufre, sodium, potassium, calcium, magnésium, fer.

b) Des noyaux d'acides aminés indispensables, comme l'histidine, l'arginine, la lysine, le tryptophane et la cystine, qui sont contenus dans la caséine.

c) Certaines vitamines.

II. — Des principes énergétiques qui fournissent l'énergie nécessaire à l'accomplissement des réactions chimiques vitales. Ce sont :

a) Les sucres, comme le lactose ;

b) Acides gras, comme ceux que renferme le beurre de coco ;

c) Des acides aminés provenant de la caséine et non utilisés au point de vue plastique ;

d) Des glucides provenant de la fécule de Pommes de terre.

III. — Des principes dits catalytiques (parce qu'ils agissent à la manière de catalyseurs) pour amorcer et permettre la réalisation des réactions chimiques intra-organiques. Ce sont :

a) Fer, Cuivre, Manganèse, Aluminium, brome, iode, fluore, Cobalt, Nickel et le Silicium.

En ce qui concerne ce dernier, la quantité existant normalement dans la fécule était estimée suffisante. Il en est de même pour le bore et l'arsenic, qui se trouvent toujours en proportions infinitésimales dans les acides employés pour la purification de certains

éléments nutritifs auxquels ils peuvent se fixer par adsorption en quantité largement suffisante.

b) Certaines vitamines.

IV. — Principes nécessaires au maintien de la concentration normale des humeurs. Ces principes ont un rôle physico-chimique destiné à assurer la constance de la pression osmotique du milieu intérieur. Ce sont : des matières minérales et, principalement, du chlorure de sodium.

Nous avons substitué le chlorure de calcium au chlorure de sodium, dans l'espoir que ses éléments seraient facilement absorbés par l'animal et qu'il n'en résulterait aucun inconvénient.

Nous avons utilisé la cellulose comme ballast ou substance encombrante destinée à éviter la constipation et faciliter l'élimination des matières toxiques.

De plus, pour saturer les acides phosphoriques et sulfuriques provenant de l'oxydation du Phosphore et du Soufre de la caséine et contenus dans les tissus de l'animal, nous avons introduit du lactate de calcium. Aux lieux et place de phosphate de calcium, qu'il est impossible d'obtenir exempt de Zinc, nous avons préféré faire entrer dans la constitution de ce régime les phosphates monopotassiques et disodiques, faciles à purifier.

**Purification des matières organiques
et minérales qui entrent
dans la composition du régime synthétique.**

Il a été démontré définitivement, par les travaux de M. G. BERTRAND et VLADESCO d'une part et M. G. BERTRAND et BENZON d'autre part que, dans le règne animal aussi bien que dans le règne végétal, le Zinc est presque universellement répandu. Il a été aussi démontré, par plusieurs auteurs, et surtout par DIEU-LAFAIT (52 bis), que la présence de Zinc est aussi très fréquente dans les sels métalliques. C'est pourquoi il est nécessaire de purifier tous les ingrédients qui composent le régime artificiel répondant aux besoins d'un animal, sans risquer d'y introduire, à notre insu, des quantités appréciables de Zinc.

Les procédés de purification que nous utilisons sont choisis aussi judicieusement que possible en prenant pour guide la nature chimique de l'aliment. Nous nous sommes efforcé, dans la plus large mesure, de ne mettre en œuvre, dans ces purifications, que des traitements non susceptibles de provoquer une altération chimique de la substance et n'entraînant, par conséquent, aucune diminution de sa valeur nutritive.

Purification de la fécule de Pomme de terre.

Il a été démontré par M. Gabriel BERTRAND et BENZON que la fécule de Pomme de terre ne contient qu'une

très faible quantité de Zinc : 1 mgr. par kgr. La fécule de Pomme de terre est introduite, dans notre formule de régime artificiel, comme source glucidique. Elle peut convenir pour nos expériences, à la condition d'en éliminer le Zinc. C'est pourquoi nous traitons notre fécule de Pomme de terre (HEUDEBERT) de la façon suivante :

Nous plaçons 500 gr. de fécule de Pomme de terre dans un flacon de verre d'une capacité de 2 litres. Le flacon, rempli aux trois quarts avec une solution d'acide chlorhydrique à 20 % (purifié par redistillation et exempt de Zinc), est bouché très soigneusement. On fixe le flacon bien ficelé sur une machine à agiter que nous maintenons en mouvement pendant une heure. Après ce temps, nous laissons la fécule se déposer pendant vingt-quatre heures. Le lendemain, nous décantons le liquide trouble surnageant. On répète cette opération quatre fois. Nous soumettons ensuite quatre fois la fécule au même traitement avec de l'eau distillée pour éliminer l'acide chlorhydrique absorbé par celle-ci, et finalement, nous agitons avec une solution très faiblement ammoniacale. Ce traitement a pour but de neutraliser les traces d'acide restées dans la fécule et qui n'ont pas été complètement éliminées par le lavage. Nous répétons enfin les lavages cinq fois avec l'eau distillée jusqu'à ce que toute trace d'ammoniaque ait disparu. Le produit pur est enfin déshydraté avec de l'alcool redistillé. Ce produit pur est desséché à l'étuve. Il est évident que tous les produits chimiques employés dans

cette purification, l'acide chlorhydrique, l'eau, l'ammoniaque et l'alcool, doivent avoir été soigneusement purifiés par les méthodes convenables.

Les flacons de verre qui servent à cette opération sont, avant leur emploi, traités par de l'acide nitrique à chaud, puis par de la lessive de soude et, finalement, lavés soigneusement à l'eau de façon à entraîner la totalité du Zinc qu'ils pourraient éventuellement céder aux réactifs. Les bouchons de liège sont lavés à chaud avec de l'acide chlorhydrique dilué, puis traités par l'alcool, afin d'en extraire les matières colorantes qui pourraient teinter notre fécule, pendant les divers traitements.

Purification de la caséine.

La caséine est introduite dans notre formule comme source des acides aminés indispensables à la vie des animaux et comme source d'élément plastique, tels que le soufre et le carbone. Comme la fécule de Pomme de terre, elle ne peut convenir à nos expériences qu'à condition d'en éliminer le Zinc. Nous avons préféré préparer la caséine à partir du lait au lieu d'entreprendre la purification de la caséine du commerce, sur la fabrication de laquelle nous n'avions pas de renseignements bien précis.

Le lait de vache contient, normalement, environ 4 mgr. de Zinc par litre. La plus grande partie du Zinc reste en solution dans le lacto-sérum lorsqu'on précipite la caséine du lait par un acide, mais, le pré-

cipité de caséine en entraîne toujours, par adsorption, une quantité non négligeable, de sorte que la caséine du commerce, qualifié de pure, contient toujours des traces de Zinc. Nous préparons donc la caséine à partir du lait et la purifions de la manière suivante :

Quatre litres de lait sont écrémés par centrifugation pendant une heure. Après la centrifugation, nous séparons la crème et décantons le lait. Pour séparer les dernières petites traces de beurre que le lait peut contenir, nous filtrons celui-ci à travers un filtre Charadin préalablement mouillé avec de l'eau bidistillée. Les petits globules de beurre restent sur le filtre. Nous précipitons le lait, ainsi privé de toute matière grasse, par l'acide acétique dilué (10 %). Nous ajoutons cet acide goutte à goutte en remuant constamment avec une baguette de verre, et poursuivons ces additions jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de précipité. Cette précaution est très importante pour précipiter la caséine en flocons aussi fins que possible, afin de diminuer l'entraînement, par les flocons, du Zinc dissous dans le sérum. Ensuite, nous centrifugeons et décantons le sérum. La caséine est directement triturée dans le pot à centrifuger avec une très petite quantité d'eau, de manière à faire un mélange homogène, sans grumeaux. A cette pâte liquide, nous ajoutons peu à peu, en remuant, de l'eau acidulée par de l'acide acétique jusqu'à ce que le pot soit entièrement rempli. Le tout est fortement agité et centrifugé à nouveau, après quoi nous décantons l'eau. Nous répétons quatre fois ce lavage. La caséine, ainsi lavée, est triturée avec

un peu d'eau et additionnée d'ammoniaque en remuant la pâte avec une baguette en verre jusqu'à ce que toute la caséine soit entièrement dissoute. Cette solution de caséine est convenablement étendue d'eau. Il en résulte un liquide opalescent. Après plusieurs heures de repos, cette solution est filtrée sur un filtre préalablement mouillé. Nous précipitons encore une fois la caséine de cette solution par l'acide acétique dilué et nous répétons, dans le même ordre que précédemment, les centrifugations et les lavages à l'eau acidulée. La caséine, encore humide, est enfin triturée à plusieurs reprises avec de l'alcool fort et ainsi déshydratée. Elle est ensuite lavée avec de l'éther et séchée dans l'étuve. Cette manipulation nous donne alors une caséine pulvérulente et d'une blancheur de neige.

Purification de la cellulose.

Comme ballast, ou matière encombrante, nous utilisons la cellulose sous forme de papier filtré. Ce papier contient, entre autres impuretés métalliques, des quantités assez grandes de Fer, de Cuivre et de Zinc. Pour le purifier et le débarrasser de tous ces métaux, nous utilisons une méthode semblable à celle employée pour la fécule de Pomme de Terre. Au lieu de laisser déposer et de décantier les liqueurs, nous séparons les eaux de lavage acides et neutres par filtration et essorage sur un entonnoir en porcelaine par aspiration à la trompe.

Purification du lactose.

Le lactose est introduit dans notre formule comme représentant des sucres, principes essentiellement énergétiques. Le lactose de commerce, préparé par évaporation du petit lait et recristallisation, contient toujours du Zinc. Nous le purifions de la façon suivante :

Cinq cents gr. de lactose sont dissous dans 5 litres d'eau. La solution est filtrée et traitée par l'acétate de Plomb. Après un repos de quelques heures, la solution est filtrée à travers un filtre Chardin préalablement imbibé d'eau. La solution est ensuite saturée d'hydrogène sulfuré. Après quarante-huit heures de repos dans le flacon soigneusement bouché, le contenu est filtré en couvrant l'entonnoir avec une plaque de verre afin d'éviter l'oxydation des sulfures retenus par le filtre.

Le liquide filtré est évaporé dans le vide jusqu'à consistance de sirop. Ce sirop est filtré et séparé du soufre, qui se dépose, pendant la concentration, sur les parois du ballon. Ce sirop est à nouveau évaporé dans le vide presque jusqu'à sec. Nous retirons cette matière du ballon en y versant un peu d'eau et nous éliminons ensuite cette eau, par filtration à travers un entonnoir de Buchner. Nous répétons plusieurs fois la même opération avec l'eau mère. Les cristaux de lactose, ainsi obtenus, sont mis dans une cuvette de porcelaine et desséchés à la température ordinaire.

Purification du lactate de calcium.

Le lactate de calcium est purifié par la méthode du zincate de calcium de M. G. BERTRAND et JAVILLIER (53). Nous aurons l'occasion de parler de cette méthode dans la partie analytique de notre travail. Nous dissolvons le lactate de calcium dans l'eau, filtrons et ajoutons à sa solution de l'ammoniaque et du lait de chaux. Nous portons le mélange à l'ébullition, vérifiant qu'il contient un excès de chaux libre. Quand tout l'ammoniac est évaporé, nous laissons refroidir, filtrons et saturons la solution avec du gaz carbonique, pour transformer l'hydrate de chaux en carbonate de calcium, filtrons et évaporons le liquide au bain-marie jusqu'à commencement de cristallisation.

Préparation du beurre de coco.

Le beurre de coco est introduit dans notre formule comme matière grasse (autre principe énergétique) non remplaçable. Nous préparons le beurre de coco en partant de la Noix de coco. La Noix de coco est lixiviée avec de l'éther et ce dernier chassé ensuite par distillation. Tous les appareils utilisés pour cette extraction sont soigneusement lavés, ainsi que les flacons et autres ustensiles précédemment utilisés et ce, en suivant la technique indiquée à propos de la purification de la fécule de Pomme de Terre.

Purification du chlorure de calcium.

Pour assurer la constance de la pression osmotique des humeurs, nous avons introduit dans notre formule le chlorure de calcium. Le chlorure de calcium est également purifié par la méthode du zincate de calcium, la solution alcaline contenant de la chaux libre est neutralisée exactement avec de l'acide chlorhydrique et le taux de Ca Cl^2 en solution est déterminé par titrage.

Nous avons dit plus haut que parmi les principes statiques exogènes se trouvent des éléments minéraux indispensables qui tiennent lieu de matériaux de construction, assurant le maintien de la structure des organes animaux. Parmi les plus importants, on peut citer le calcium, le magnésium, le phosphore, le soufre, le fluore, le Fer, le potassium, le sodium et le chlore.

On sait aussi que pour maintenir l'équilibre neutre $\frac{\text{acide}}{\text{base}}$ du milieu antérieur de l'organisme animal, l'introduction de phosphates dans la formule de la nourriture est indispensable.

Il est également établi que, pour le fonctionnement normal de la thyroïde, la présence de l'iode dans les aliments est absolument nécessaire.

De plus on ne doute plus, aujourd'hui, que le défaut de calcium provoque l'évolution des ostéoblastes, des ostéomalacies et ostéoporoses. Le défaut

de magnésium détermine l'anarchie cellulaire et le défaut de Fer favorise l'anémie.

Enfin, il est définitivement établi que l'oxydation cellulaire exige la présence de Fer et de Manganèse dans la composition du régime.

Les éléments minéraux composant nos aliments synthétiques furent d'abord soigneusement purifiés par la méthode suivante :

Purification des sels minéraux.

Alun aluminopotassique. — Pour purifier l'alun nous soumettons le sel du commerce, dit pur, à trois cristallisations troublées successivement en le dissolvant à chaud dans son poids d'eau, en l'essorant à la trompe et en le lavant finalement avec de l'eau froide. Après cette purification, nous avons fait une tranquille cristallisation par refroidissement lent de la solution chaude et concentrée. Après quelques jours de repos, nous recueillons les cristaux et nous les desséchons à la température du laboratoire

Tous les autres sels minéraux sont purifiés par les méthodes habituelles utilisées par M. G. BERTRAND. L'analyse de 10 gr. d'un échantillon d'un mélange de tous ces ingrédients de notre régime artificiel purifié de la façon indiquée plus haut, a démontré l'absence totale de Zinc. Cette analyse a été faite par la méthode du zincate de calcium, dont nous aurons l'occasion de parler plus loin.

Nous avons préféré fournir aux animaux leur nour-

riture sous une forme sèche, dure et solide, au lieu de la donner en poudre ou pâtee. Un certain nombre de raisons nous y ont incité. Il est compréhensible qu'un animal privé de liberté et emprisonné dans un bocal d'une capacité de 2 dmc., a besoin de mouvement. Dans notre cas, où l'animal appartient à la classe des rongeurs, l'acte même de ronger des matières solides est pour lui un exercice nécessaire et suffisant pour assurer son développement physique. D'autre part, l'exercice des incisives sur une matière dure est également indispensable aux rongeurs afin d'éviter un accroissement trop grand de celles-ci.

Quelques remarques sur l'alimentation des animaux.

Avant d'écrire comment nous avons procédé pour la préparation de la nourriture, il serait intéressant de faire quelques remarques sur l'alimentation synthétique des animaux, l'utilisation des vitamines par les vertébrés supérieurs exigeant des conditions différentes de celles utilisées pour les expériences de croissance des plantes.

La plus grande partie, 73 %, de notre régime artificiel, est composée par la fécule de Pomme de terre.

Il a été observé par Mme RANDOIN et LECOQ (54) que la survie des animaux avec régime (sans vitamine B) contenant entre autres 35 % des glucides différents, se comporte de la façon suivante :

Glucides	Durée des survies
Glucose.....	15 à 20 jours
Glycogène.....	16 à 25 —
Dextrine.....	17 à 27 —
Amidon de Riz.....	25 à 30 —
Inuline.....	35 à 40 —
Fécule de Pomme de terre....	40 à 60 —

LECOQ a démontré, entre autres observations, que la simple substitution des protéïdes aux glucides, poids pour poids, n'empêche pas l'apparition des crises de polynévrite en l'absence de vitamines B.

Mme RANDOIN et SIMMONET (55) montrent, peu après, que les animaux peuvent vivre très longtemps, mais non pas indéfiniment, au moyen de régime privé de glucide même en l'absence de vitamines B.

Dans ce cas, on introduit dans l'alimentation une quantité de lipide correspondant, du point de vue calorifique, aux glucides supprimés. On se sert, pour effectuer cette substitution, du coefficient d'ATWATER *.

Cependant, les animaux soumis à ce régime finissent toujours par présenter des crises tardives de polynévrite.

De tout ceci, il résulte pour nous qu'il est nécessaire d'introduire une certaine quantité de glucides et, par voie de conséquence, de la vitamine B pour assurer le développement normal de nos animaux d'expérience.

* Coefficient d'ATWATER :

1 gr. de glucide.....	3 cal. 88
1 gr. de lipide.....	8 cal.45

Il est définitivement établi aujourd'hui que les animaux ont un besoin impérieux de certains acides aminés, histidine, arginine, trypsine, tryptophane, cystine, qu'ils ne peuvent synthétiser eux-mêmes et que les matières protéiques, privées de ces acides aminés particuliers, sont incapables d'assurer la survie. De plus, les observations faites sur le Rat par FUNK et DUBIN (56) établissent que les protéides seuls ne rendent pas l'emploi des vitamines B indispensable pendant les premiers temps, au contraire de ce qui se passe dans le cas d'une alimentation glucidique ou constituée par des lipides. Il y a donc une action protectrice des acides aminés vis-à-vis de l'évolution de la polynévrite. Cette observation de FUNK et DUBIN a été confirmée par FUNK (57), COLLAZA et KACZMAREC (57). Récemment, LECOQ (58) a démontré très nettement l'action protectrice du tissu musculaire vis-à-vis de l'évolution de la polynévrite, tandis que la substitution de la peptone aux muscles ne présente aucune action protectrice.

Il convient de penser, en se basant sur la lente digestibilité de la caséine, que cette dernière peut agir comme le muscle parce que, d'après la notion de LECOQ, les protéides semblent en effet prolonger d'autant plus la survie des animaux que leur absorption intestinale est moins rapide. Toutes ces considérations nous ont autorisé à utiliser une certaine quantité de caséine.

L'importance des lipides pour entretenir la vie a été récemment démontrée par plusieurs auteurs.

Casimir FUNK (59) note l'action retardatrice qu'exercent les graisses sur l'évolution de l'avitaminose B chez les Pigeons.

Une croissance bien plus satisfaisante des animaux qui consomment un régime additionné de graisses a été observée par EVANS et LEPKOWSKY (60).

G. BURR et M. BURR (61) ont établi le rôle essentiel des acides gras non saturés. EVANS et LEPKOWSKY (62) ont démontré que l'action favorable exercée par les graisses est due aux glycérides qui entrent dans leur constitution. Toujours d'après ces auteurs (63) le myristide et le caprylide l'emportent notablement sur le stéaride. L'intervention particulière des lipides dans la production d'équilibre favorisant l'utilisation du lactose chez le Rat, même en l'absence des vitamines B, fut mise en évidence par LECOQ (64). Ce dernier a, de plus, montré qu'en l'absence des vitamines B, l'évolution des polynévrites varie d'un corps gras à l'autre, comme suit :

Matières grasses présentes dans le régime synthétique	La durée de survie
Huile d'Olive.....	20-35 jours
Huile de Ricin.....	—
Huile d'Arachide.....	25-40 jours
Saindoux.....	—
Beurre de coco.....	30-45 jours
Huile de Palme.....	—
Beurre de cacao.....	38-50 jours
Huile de Lin.....	—
Huile de foie de Morue.....	44-55 jours

Le rôle joué par les acides gras non saturés des

huiles est tenu par l'acide stérique dans le cas des corps gras solides.

De plus Mme RANDOIN et LECOQ (65) ont démontré que l'élimination de la plus grande partie des lipides du lait de Vache rend l'aliment incapable de subvenir aux besoins de l'organisme du Pigeon, même quand on lui adjoint les substances de lest indispensables. Ces derniers auteurs ont démontré aussi qu'il résulte un grave déséquilibre alimentaire quand on remplace les lipides par le lactose. Enfin, il a été démontré par MM. G. BERTRAND et BENZON que, parmi les matières grasses, le beurre de coco est la seule substance qui ne renferme pas le Zinc et c'est pourquoi nous l'avons utilisé comme source de lipides dans notre régime synthétique.

Quant aux métaux, les animaux absorbent sous différentes formes : Sels minéraux (par exemple le chlorure de sodium), sels d'acides organiques, ou même, quoique plus rarement, combinaisons organiques plus complexes.

MITCHELL et VAUGHAN (66) montrent que l'acétate et le citrate ferrique agissent mieux que l'oxyde ferrique et le carbonate ferreux pour la guérison de l'anémie. MM. G. BERTRAND et NAKAMURA (67) ayant effectué des recherches minutieuses sur la nécessité du Fer, recherches parallèles à celles que MM. G. BERTRAND et BENZON (68) ont effectuées à propos du Zinc, ces auteurs trouvent que le Fer administré à de jeunes Souris, sous forme d'alun ferrico-ammoniacal est résorbé et retenu dans les tissus des animaux.

Nous avons tenu compte de toutes ces remarques dans l'établissement de la formule de notre régime synthétique. Seules de nouvelles découvertes pourraient permettre de l'améliorer encore.

**Préparation de deux lots de chacun 100 gr.
de pain synthétique, avec ou sans Zinc.**

Nous avons déjà mentionné plus haut que nous préférons fournir aux animaux leur nourriture sous une forme sèche, dure et solide.

• Voici la technique employée :

On place dans un mortier :

5 gr. de lactose cristallisée ;

5 gr. 200 de lactate de calcium cristallisé $5\text{ H}^2\text{O}$;

0 gr. 200 de chlorure de calcium anhydre.

On ajoute 120 cmc. d'eau pour dissoudre, puis 10 gr. de lactose ;

On mélange bien et on ajoute 26 gr. de caséine, on triture, laisse une à deux heures en repos, puis on triture à nouveau de manière à obtenir un mélange bien homogène ;

On ajoute ensuite et peu à peu 146 gr. de fécule de Pomme de terre. On doit obtenir ainsi une masse presque sèche et pour ainsi dire pulvérulente. On incorpore alors 5 gr. de beurre de coco fondu dans une petite capsule ;

On prend la précaution d'enlever, avec une partie du mélange pulvérulent, ce qui reste de beurre de coco dans la capsule.

Lorsqu'on a bien trituré ensemble toutes les substances ci-dessus, on y ajoute peu à peu les deux solutions suivantes :

SOLUTION A :

Sulfate de magnésium cristallisé....	0 gr. 500
Alun ferrico ammonique.....	0 gr. 040
Alun alumino-potassique.....	0 gr. 008
Sulfatè de Cuivre cristallisé.....	0 gr. 004
Sulfate de Manganèse cristallisé.....	0 gr. 004
Eau	20 cmc.

SOLUTION B :

Phosphate monopotassique.....	0 gr. 600
Phosphate disodique cristallisé.....	1 gr. 500
Fluorure de sodium.....	0 gr. 008
Iodure de potassium.....	0 gr. 010
Bromure de potassium.....	0 gr. 010
Eau.....	20 cmc.

La masse grumeleuse est divisée en deux parties égales. On ajoute à la première, en triturant, 20 à 22 cmc. d'eau pour faire une pâte que l'on divise en petits pains qui, après cuisson dans un four électrique, constitueront les pains sans Zinc. A la seconde partie on ajoute 10 mgr. de sulfate de Zinc cristallisé préalablement dissous dans les 20 à 22 cmc. d'eau ajoutés pour terminer la pâte. Celle-ci, façonnée et cuite, constituera les pains sans Zinc.

Ces petits pains synthétiques sont conservés dans un flacon soigneusement bouché et à l'abri de l'humidité.

Les animaux s'accoutument très bien des pains ainsi préparés ; ils semblent les manger avec un certain plaisir. Un ou deux de ces pains suffisent pour la

nourriture d'une journée de chaque animal. Comme boisson, nous leur donnions de l'eau bidistillée contenue dans une pipette appropriée.

Technique des expériences.

Les jeunes Souris sont séparées de leur mère au moment du sevrage, c'est-à-dire le vingt-et-unième jour de leur vie. Les recherches de MM. G. BERTRAND et VLADESCO, ont prouvé que c'est précisément à ce moment que la teneur en Zinc chez les jeunes animaux atteint son minimum. Les animaux sont choisis dans la même portée ; chacun d'eux est d'abord pesé et ensuite placé isolément dans un bocal en verre. Les bocaux, d'une capacité de 2 dmc., ont été préalablement garnis d'un fond de papier Berzelius et d'un nid de coton hydrophile, l'un et l'autre exempt de Zinc. Chaque bocal est fermé d'un couvercle en verre perforé qui permet l'échange d'air avec l'atmosphère. Une pipette, contenant de l'eau bidistillée, fixée au couvercle par un bouchon placé extérieurement, complète l'installation.

Après la pesée de chaque individu, la portée des jeunes animaux est divisée en deux lots : un lot qui recevra la nourriture sans Zinc et un lot témoin. Pour diminuer toute possibilité d'erreur et pour faciliter les comparaisons, il est nécessaire de ne mettre en parallèle que les animaux frères et sœurs, partagés le plus également possible entre les deux séries alimentaires avec ou sans zinc,

La nourriture qu'on leur distribue est soigneusement pesée. On les met dans une chambre à température constante, environ 25°, jusqu'au lendemain pour qu'ils s'habituent à leurs nouveaux logement et régime.

Pendant toute la durée de l'expérience, les animaux sont pesés tous les deux jours.

Pour la pesée, on place les Souris dans un petit verre très mince pouvant facilement aller sur le plateau d'un trébuchet. Le fond de ce verre est préalablement garni d'une rondelle de papier filtre Durieux. Pour éviter que l'animal ne profite d'un moment d'inattention pour s'échapper, on couvre ce récipient avec le couvercle d'une boîte de Petri.

La nourriture est renouvelée et pesée chaque jour tandis que l'eau, le coton qui sert de lit, et le papier Berzélius, sont changés selon les besoins.

Résultats de nos expériences préliminaires.

Dans nos expériences, nous nous sommes servi exclusivement de Souriceaux pris au moment du sevrage. Nous avons d'abord répété les expériences de MM. G. BERTRAND et BENZON, c'est-à-dire que nous avons soumis deux lots de nos animaux, frères et sœurs, à des régimes synthétiques fortement carencés en vitamines, avec ou sans Zinc. Soumis à ce régime, les animaux cessent généralement de croître après une dizaine de jours. Leurs poils commencent à se hérissier et après une quinzaine de jours ils

montrent des symptômes caractéristiques de la poly-névrite qui résulte de l'absence de vitamine B. dans leur nourriture.

Ces symptômes sont caractérisés par de la paralysie du train postérieur et par des troubles des canaux semi-circulaires, qui se manifestent par le manque d'équilibre. Au bout de deux semaines, les animaux meurent l'un après l'autre et après quatre ou cinq semaines ils sont généralement tous décédés, qu'ils aient été soumis ou non à un régime exempt de Zinc. Un fait significatif vient cependant dans ces expériences apporter une confirmation à l'hypothèse du rôle favorable du Zinc dans la cellule vivante. Les Souris qui ont eu dans la nourriture le Zinc indispensable pour l'accomplissement normal des différentes fonctions sont plus résistantes que celles qui n'ont pu s'en procurer. Elles survivent plusieurs jours à ces dernières.

Ces observations confirment donc une fois de plus les résultats obtenus par MM. G. BERTRAND et BENZON.

Notion des vitamines.

Puisque nous utilisons les vitamines, nous allons rapidement passer en revue les étapes expérimentales qui ont conduit à leur notion d'abord, puis à leur isolement.

C'est en poursuivant l'ancienne méthode d'expérimentation sur les animaux, avec des aliments à base de lait, qu'on découvrit les vitamines.

En 1881, LUNIN (69) constata que des Souris, nourries avec de la poudre de lait, pouvaient vivre au moins deux mois et demi.

Au contraire, une alimentation composée de caséine, de matières grasses et de saccharose, amène la mort en onze à vingt et un jours.

LUNIN conclut « que d'autres substances indispensables à la nourriture sont présentes dans le lait, outre la caséine, des matières grasses neutres, des sels et du lactose ».

HOPKINS (70) en 1912, mettait en évidence la remarquable action que possèdent de faibles quantités de lait ou d'extraits alcooliques de lait sur la croissance du Rat soumis à des régimes composés de substances purifiées, régimes avec lesquels d'ailleurs aucun animal ne peut vivre.

« Aucun animal » affirme HOPKINS, « ne peut vivre avec un mélange composé de matières protéiques pures, de matières grasses et d'hydrates de carbone et, même si les matières minérales nécessaires sont présentes, l'animal ne peut pas se développer ». Il dit encore : « Ce qui manque à la ration d'aliments purifiés, c'est peut-être un ou plusieurs complexes que l'animal est incapable de synthétiser. Mais la quantité de ces complexes, qui semble suffisante pour assurer la croissance, est si petite, qu'une action catalytique ou stimulante semble très vraisemblable ».

Les travaux apportant le premier éclaircissement sur la nature de ce « non-déterminé » sont les recherches presque simultanées, de Mc COLLUM et DAVIS (71) d'un côté, et d'OSBORNE (72) et MENDEL (72) de l'autre.

En 1913, ces auteurs ont observé que le lait et le jaune d'œuf contiennent une substance que l'on peut extraire par l'éther et qui est indispensable à la croissance et à la vie des animaux. Ces auteurs désignent cette substance sous le nom de « facteur lipo-soluble A ».

En 1890, EIJKMANN (73) montra le rôle du Riz poli dans la polynévrite aviaire, maladie assez voisine du béri-béri humain, mais c'est GREIJNS qui trouva l'interprétation exacte de l'observation faite par EIJKMANN. Il comprit que, dans une nourriture provoquant le béri-béri aviaire et humain, il manquait un facteur essentiel, qui est contenu dans le son du Riz.

En 1911, BRÉAUDAT (118), a démontré l'action curative du son de riz sur le béri-béri humain.

En 1912, DUZUKI, SHIMURA et ODAKE (119) ont isolé, à l'état de cristal, un principe qu'ils ont appelé « oryzanin » en partant du son de riz. Ce principe possède des propriétés vitaminiques B.

En 1912, FUNCK (74) isola ce principe, à l'état de cristaux, dans le son du Riz et la levure de bière.

Il lui donna le nom de « Vitamine ».

En 1914-1915, OSBORNE et MENDEL (75), ainsi que Mc COLLUM et DAVIS (76) découvrirent un autre facteur indispensable à la croissance et à la vie, et bien différent du facteur lipo-soluble A.

De nombreuses recherches leur permirent de constater que la poudre du lait, le germe de Blé, contenaient une faible quantité d'une substance soluble dans l'eau et dans l'alcool et dont la présence est nécessaire pour assurer au Rat une croissance normale. Cette substance est le facteur hydro-soluble B, dont l'absence est caractérisée par l'apparition de la polynévrite, maladie qui se manifeste également en l'absence de vitamine B de FUNCK.

La vitamine B de FUNCK, cependant, n'est pas identique au facteur hydro-soluble B.

On fut alors amené à l'idée que la vitamine B renfermait deux facteurs distincts.

Les preuves expérimentales de l'existence de deux vitamines B ont été apportées par Mme RANDOIN et R. LECOQ (77), qui ont démontré que la nutrition du

Pigeon pouvait être assurée sans que l'animal soit protégé contre les crises nerveuses.

D'autre part, HAUGE et CARRICK (78) ont établi que la protection contre les accidents nerveux pouvait être obtenue chez le Poulet, sans que les besoins nutritifs soient satisfaits.

En effet, on admet, à l'heure actuelle, l'existence de deux vitamines B au moins :

- 1^o Vitamine anti-névritique, ou B¹ (sensible à l'action de la chaleur (caractérisée par Mme RANDOIN et LECOQ- (79) ;
- 2^o Vitamine d'utilisation nutritive, ou B², résistant à l'action de la chaleur (caractérisée par les mêmes auteurs).

Ces substances sont bien distinctes de celle qui est présente dans le beurre, car l'addition de 20 % de graisse de beurre, dans le régime de base (Riz poli, caséine, beurre, et mélange salin), ne permet le développement qu'autant que l'autre facteur de croissance, apporté par le son de Riz, est présent. Inversement, celui-ci n'est opérant qu'autant que celui-là est présent.

Depuis le temps reculé du « Sire de Joinville » au XIII^e siècle, il est reconnu que le défaut d'un facteur contenu dans le jus de Citron ou dans certains légumes frais, provoque une maladie nommée scorbut. Ce facteur a été nommé facteur antiscorbutique ou vitamine C.

En 1919, MELLANBY (80) produit du rachitisme

expérimental chez le Rat et le Chien. Il pensa que c'était peut-être le facteur de croissance lipo-soluble A qui jouait un rôle dans le développement du rachitisme. Mais, parmi les substances riches en facteur A, certaines se montrent anti-rachitiques, d'autres sont dépourvues ou presque de cette propriété. L'idée de l'existence d'une vitamine anti-rachitique, venait à l'esprit des chercheurs.

Beaucoup de tentatives pour isoler ce facteur anti-rachitique ont été faites depuis que HULDSCHINSKY (81) a démontré la guérison complète du rachitisme par les rayons ultra-violets, mais c'est WINDAUS (82) qui a nettement démontré la transformation, par les irradiations des rayons ultra-violets, de l'ergostérol en vitamine anti-rachitique D.

Quelques remarques sur les sources de vitamines.

Les multiples efforts des chimistes et des biologistes, pendant les années récentes, nous apportent un peu de lumière sur la constitution chimique des vitamines.

Toutefois, l'isolement des vitamines à l'état de pureté absolue n'est que très partiellement réalisée. En effet, nous nous trouvons, d'une part, en face d'une série de corps chimiquement purs, à propriétés vitaminiques limitées et, d'autre part, devant des mélanges plus ou moins concentrés contenant les différents facteurs de croissance.

Mais, le plus souvent, ni les uns ni les autres ne peuvent être appelés vitamines.

Grâce aux recherches de DRUMMOND (83), TAKAHASHI (84), et VON EULER (85), on peut obtenir des préparations très actives du facteur lipo-soluble A, extraites de substances naturelles. Mais la pureté de ces préparations au point de vue des très petites quantités de métaux qui nous intéressent particulièrement, est douteuse.

Pour nos expériences, dans lesquelles nous voulons déterminer l'influence de quantités infiniment petites de Zinc, il est impossible, *à priori*, de songer à utiliser de telles préparations.

Heureusement, d'après de nombreuses recherches de STEENBOCK (86), MOORE (87), VON EULER (88), KARRER (89), JAVILLIER (90), PENAU (91), BAILLY (92), etc., il est aujourd'hui définitivement établi que le carotène est la provitamine A. Le carotène cristallisé, administré à des Rats soumis à des régimes de base dépourvus de vitamines A, assure à ces animaux une bonne croissance. Le fait que le carotène pur, ajouté à un régime alimentaire privé de vitamines A rend ce régime capable d'empêcher le développement de la xérophtalmie, est aussi définitivement démontré par plusieurs auteurs.

Avec cette substance, l'organisme peut élaborer la vitamine A. VON EULER a essayé d'obtenir *in vitro* la transformation du carotène en vitamine A; il a vu cette transformation s'effectuer dans du sérum de Poule préalablement additionné de carotène. De plus,

cet auteur, en collaboration avec KARRER, a démontré que, parmi tous les carotinoïdes du règne végétal, seul le carotène est physiologiquement actif. En outre, KARRER a réussi à isoler deux isomères du carotène (carotène α et carotène β), et à déterminer la constitution chimique de ces deux isomères.

D'après KARRER et VON EULER, le carotène β , en raison de sa formule symétrique, est plus actif que l' α .

Une dose de 0 mgr. 005 à 0 mgr. 01, confère au Rat carencé l'aptitude à reprendre son développement avec un accroissement moyen de poids de 0 gr. 50 par jour.

Ces données étant acquises, nous nous sommes crû autorisé à utiliser le carotène pur procuré par M. G. BERTRAND, comme source de vitamine A. Nous avons employé des doses de carotène allant de 0 mgr. 005 à 0 mgr. 01, doses reconnues nécessaires pour amener la survie.

Ainsi que nous l'avons dit, on admet aujourd'hui qu'il existe au moins deux facteurs distincts dans la vitamine B. Un de ces facteurs la « vitamine de croissance » ou *bios* de WILDERS ou vitamine B¹, est définitivement antinévritique; l'autre est la vitamine antipellagreuse de GOLDBERGER, ou vitamine B².

En ce qui concerne l'isolement de la vitamine antinévritique B, FUNK (93), en partant du son du Riz, avait réussi à isoler une substance cristalline qui prévenait ou faisait disparaître les crises de la polynévrite à des doses de 0 mgr. 5.

JANSEN (94) parvint aussi, en partant du son du Riz,

à isoler une substance plus active que celle obtenue par FUNK.

Plus récemment, SEIDELL obtint un produit presque sans Zinc, très actif au point de vue de son pouvoir vitaminique B¹ antinévritique, ainsi que comme vitamine B².

C'est ce dernier produit que nous avons utilisé comme source de vitamines B¹ et B².

L'échantillon de vitamine B n° 34 II, préparé par SEIDELL par la méthode d'activation de la terre à foulon, a été essayé par son collègue SMITH, qui l'informe que l'activité vitaminique B de l'échantillon était huit fois et demie plus grande que celle de la levure sèche.

Pour son activité vitaminique B², il est nécessaire de faire subir à l'échantillon précédent un certain nombre de traitements. On fait une extraction avec cinq volumes d'alcool méthylique renfermant 5 % d'HCl. L'extrait est concentré de moitié et, après neutralisation partielle par CO³NaH, versé dans dix volumes d'acétone.

On obtient un produit grumeleux fin. Ce produit, lavé et desséché, est essayé pour déterminer sa valeur vitaminique B. Les doses curatives minima sont de 0 mgr. 5. Son activité vitaminique B² est ainsi soixante à soixante-dix fois plus forte que celle de la levure sèche. Nous avons préparé cette substance par cette méthode, en partant de l'échantillon 34 II fourni par SEIDELL (95) et nous l'avons utilisé pour nos expériences. Nous en avons utilisé 1 mgr. par jour et par animal.

Le facteur antiscorbutique ou vitamine C est essentiel pour l'Homme, le Singe, le Chien, le Cobaye et le Porc, mais le Rat, la Souris et le Pigeon ne semblent pas en avoir besoin. C'est la raison pour laquelle nous n'avons pas introduit ce facteur dans notre régime artificiel.

En ce qui concerne la vitamine D, une substance antirachitique a été découverte par TANRET (96) en 1889, dans l'ergot du Seigle et qu'il a nommée « Ergostérol ». Ensuite, ROSENHEIN et WEBSTER (97), FABRE (98) et SIMONET (99) ont démontré que cet Ergostérol, pour qu'il agisse comme vitamine D, doit être irradié par l'action de radiations ultra-violettes.

WINDAUS a réussi à obtenir l'Ergostérol irradié à l'état cristallisé et a pu vérifier ainsi l'activité de ce corps. De plus, les travaux d'ordre clinique de LESNÉ (100), HESS (101), BAUDOUIN (102) et Mlle PRIEUR (102 bis), etc., montrent également que l'Ergostérol se transforme en vitamine D sous l'influence de variations de courtes longueurs d'ondes.

Nous avons donc utilisé l'Ergostérol irradié comme vitamine D, à des doses infiniment petites ($1/1000$ de mgr. par jour et par animal).

Résultat de nos expériences finales.

Comme nous l'avons relaté plus haut, nous avons vérifié les expériences de MM. G. BERTRAND et BENZON avec cinq séries de 20 jeunes Souris.

Cette vérification était nécessaire, étant donné que les résultats des expériences biologiques sur l'animal varient trop souvent avec les différents chercheurs, même si la technique employée est la même.

Ces variations s'expliquent par le fait que les animaux d'expériences ne provenaient pas du même élevage, facteur pouvant jouer un rôle très important dans ces sortes d'expériences.

Nos premiers résultats, identiques à ceux de MM. G. BERTRAND et BENZON, nous permirent de penser que nous étions dans la bonne voie. Nous avons donc continué à nourrir les Souris père et mère avec des grains et quelques feuilles de Luzerne.

Nous avons effectué nos expériences finales sur cinq séries d'animaux en utilisant la technique décrite plus haut, chaque série d'animaux appartenant à la même famille (frères et sœurs) prise au moment du sevrage, était divisée en deux lots : un lot témoin destiné à recevoir le régime synthétique avec Zinc et l'autre lot sans Zinc.

Après avoir pesé chaque Souris, nous l'avons placée dans le bocal d'expérience, muni de son couvercle en verre perforé et garni d'une pipette contenant de l'eau bidistillée.

Au début, nous donnions seulement aux animaux le pain synthétique avec ou sans Zinc, et de l'eau bidistillée exempte de Zinc.

Nous poursuivions ce régime jusqu'à abaissement du poids.

Le coton servant de litière était changé fréquemment pour tenir les animaux bien propres.

Chaque animal était pesé tous les deux jours.

A partir du moment où nous avons remarqué une diminution de poids, ce qui avait lieu après une dizaine de jours, nous ajoutions à la nourriture, sur une petite croûte de pain synthétique, les vitamines (carotène, vitamines B¹ et B² de SEIDELL et l'Ergostérol irradié).

Malgré la présence des vitamines dans les aliments que les Souris dévorent avec avidité, les animaux appartenant au lot sans Zinc présentaient des symptômes de Polynévrite (hérissément du poil, manque d'équilibre et paralysie du train postérieur). Ils finissaient par mourir deux, trois ou quatre jours plus tard.

Les animaux témoins, appartenant au lot avec Zinc, présentaient quelquefois des crises tardives avec des symptômes similaires, mais ces accidents n'étaient que passagers et au bout de trois ou quatre jours les Souris commençaient à reprendre du poids.

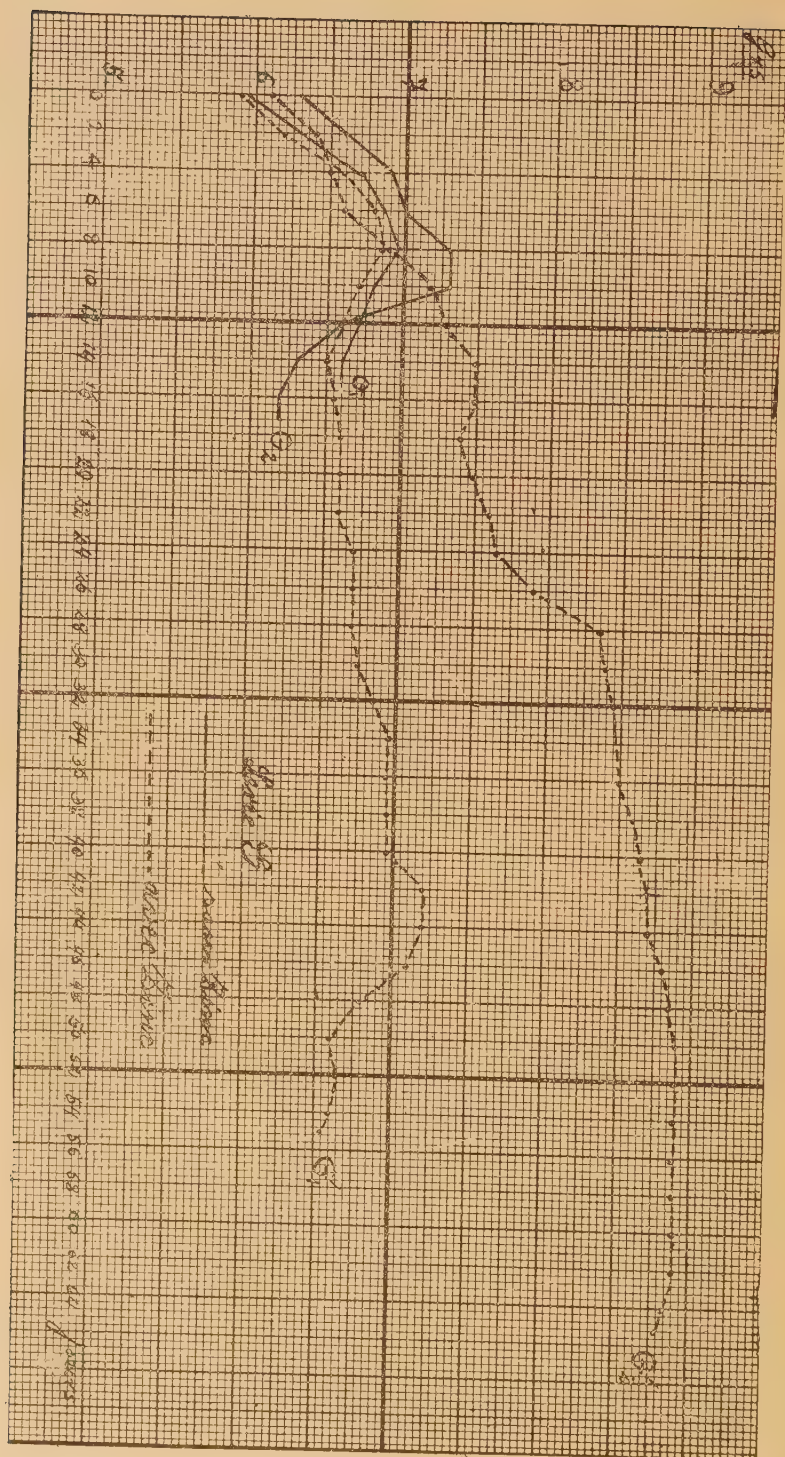
Elles finissaient néanmoins par mourir au bout de deux mois, sans toutefois présenter de symptômes de polynévrite. La mort prématurée de nos animaux témoins est peut-être due à une absence de liberté et de mouvement, s'écartant par trop des conditions de vie normale.

Avec une autre série de nos animaux, (série L) nous avons essayé de donner les vitamines préventivement, c'est-à-dire dès le premier jour du sevrage, mais les résultats obtenus n'étaient pas différents.

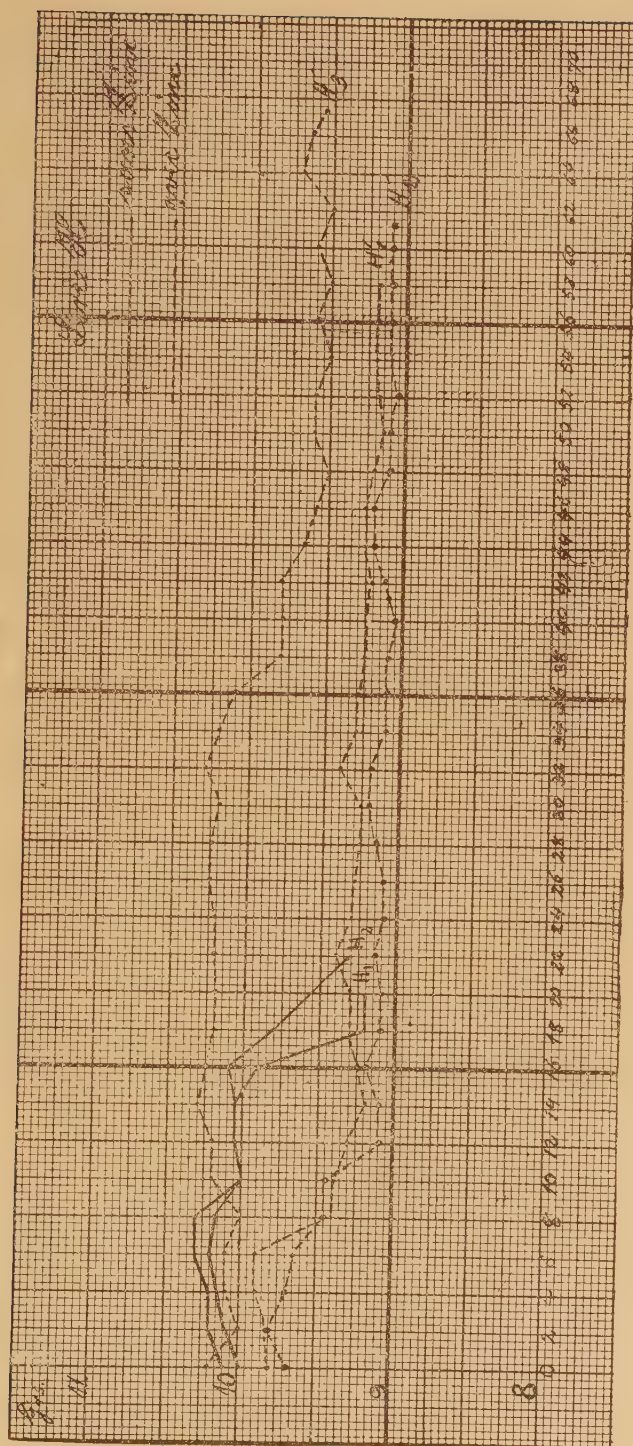
En l'absence du Zinc, l'introduction de vitamines dans les aliments, à titre préventif ou curatif, n'empêche ni la crise de polynévrite ni la mort.

Tels sont, en résumé, les résultats de nos expériences.

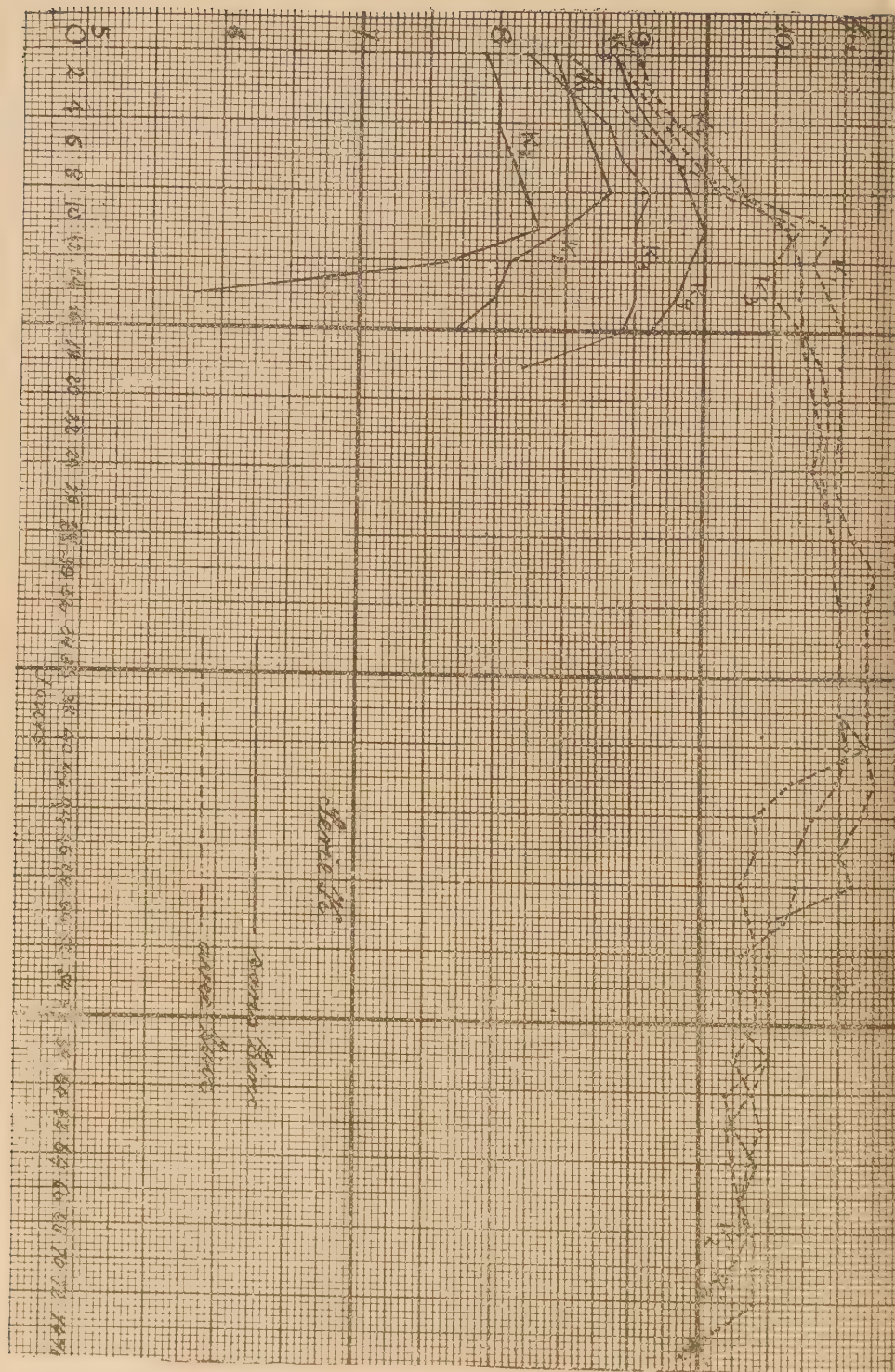
Nous avons dressé les courbes ci-contre, qui groupent nos observations sur 24 animaux répartis en cinq séries.



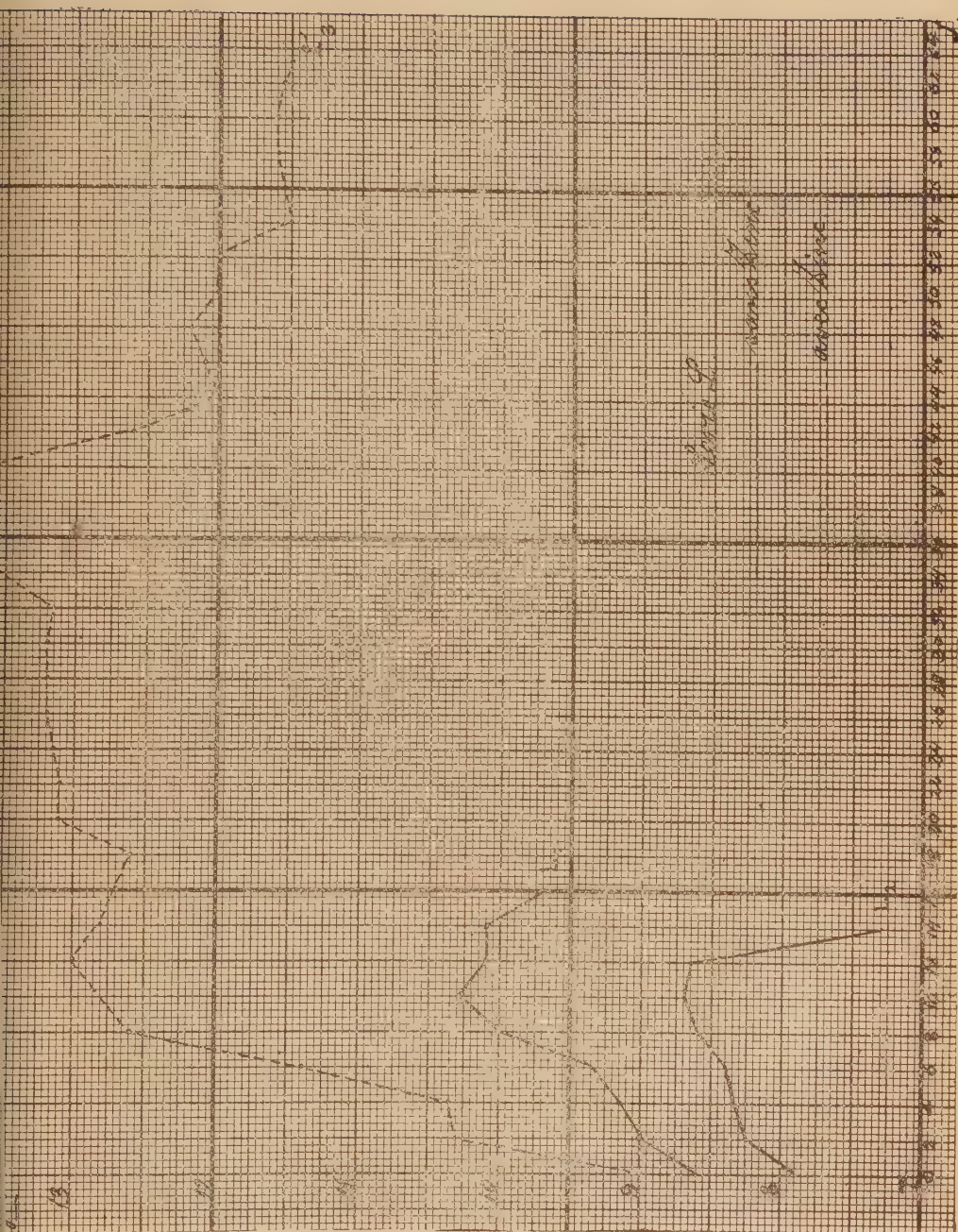
Série G.



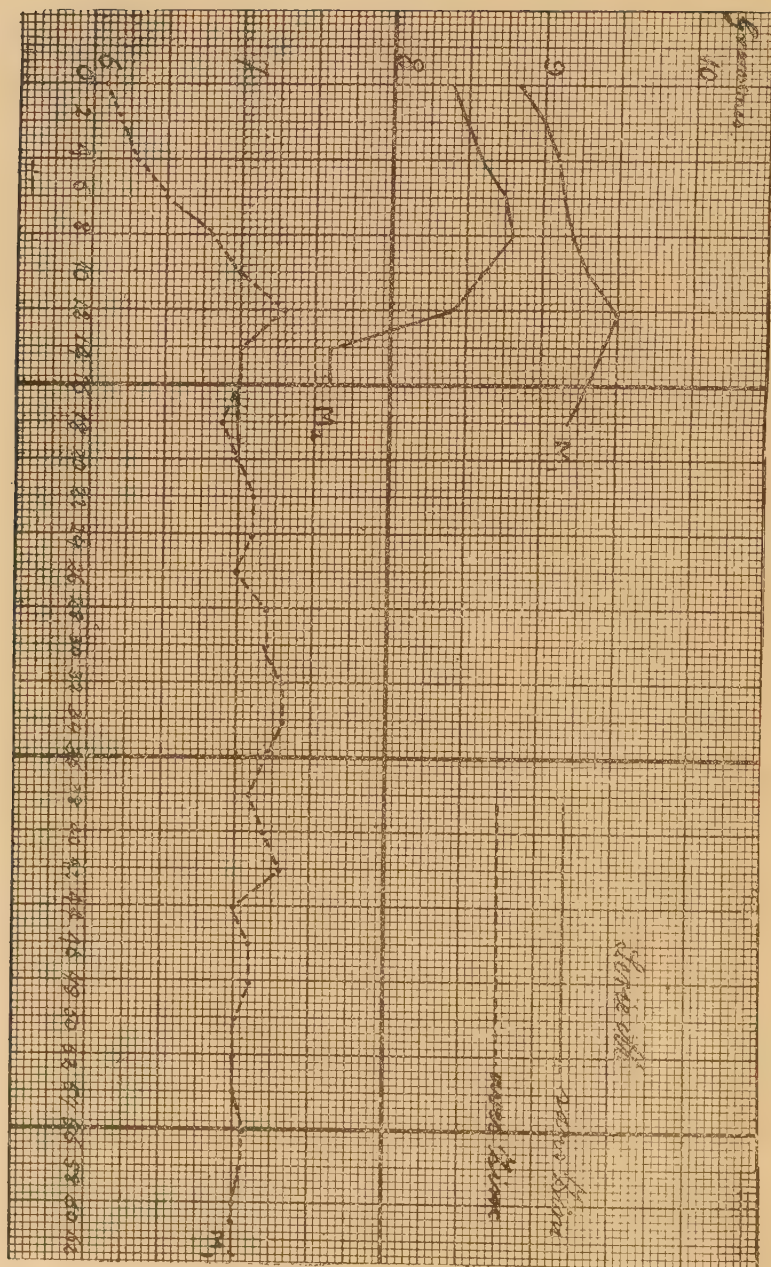
Série H.



Série K.



Série I. — Vitamines préventivement.



Série M.

PARTIE ANALYTIQUE

Dosage du Zinc dans les tissus animaux.

Pour le dosage du Zinc dans les tissus animaux, il faut tenir compte des faits suivants :

1^o Dans la cellule animale, le Zinc se trouve engagé dans des combinaisons organiques probablement très complexes, rendant absolument impossible le dosage direct de ce métal par les méthodes ordinaires de la chimie analytique.

Il faut au préalable procéder à la destruction des matières organiques.

2^o Le Zinc métallique n'est volatil qu'à une température supérieure à 920°. On ne court aucun risque, lorsqu'on veut détruire la matière organique par calcination, en maintenant le moufle au-dessous du rouge sombre ;

3^o Il existe différentes méthodes pour le dosage du Zinc dans les tissus animaux :

a) *La méthode volumétrique.* — Le titrage du Zinc est effectué à l'aide d'une solution titrée de ferrocyanure

de potassium, et en utilisant un sel d'urane comme indicateur.

b) *La méthode potentiométrique* de VAN NEEM et FENWICK (103).

c) *La méthode gravimétrique*. — Le Zinc est isolé dans un état stable et insoluble qu'on pèse. Dans les cas où, comme pour les tissus animaux, le Zinc se trouve associé, en quantités infiniment petites, à d'autres métaux, il est nécessaire d'employer la méthode la plus sensible et la plus exacte.

Les méthodes volumétriques et même potentiométriques peuvent donner des résultats erronés, soit à cause de la précipitation simultanée d'autres métaux par le ferrocyanure de potassium, soit parce que la concentration du Zinc dans les différents organes est au-dessous de la limite de sensibilité de ces méthodes.

Parmi les méthodes gravimétriques de dosage du Zinc, la méthode du zincate de calcium de MM. G. BERTRAND et JAVILLIER possède un degré de sensibilité à $\frac{1}{30.000.000}$, c'est-à-dire qu'on peut isoler et doser le Zinc sous forme de calcium, dans une solution dont la teneur en Zinc est $\frac{1}{30.000.000}$.

Toutes ces considérations nous ont incité à doser le Zinc dans les cadavres des Souris par la méthode du zincate de calcium, après destruction des matières organiques par calcination, à une température au-dessous de 900°.

Destruction des matières organiques.

Après avoir vidé le contenu de l'intestin et de l'estomac des cadavres de nos animaux d'expérience, immédiatement après leur mort, nous les avons portés, pour les dessécher, à l'étuve à 110° , jusqu'à obtention d'un poids constant.

Après dessèchement et pesée, nous avons placé séparément les cadavres des Souris dans des capsules de porcelaine et les avons portées à une température de 450° dans un four électrique.

Après quatre ou cinq heures de chauffage, les cadavres sont réduits en cendre grisâtre et il ne reste aucune particule de charbon. Les cendres, ainsi obtenues, sont pesées et utilisées pour le dosage du Zinc.

Dosage du Zinc.

Dans une capsule de porcelaine contenant les cendres pesées, nous avons versé peu à peu de l'acide chlorhydrique étendu de son volume d'eau. La solution obtenue est évaporée à siccité, au bain-marie.

Le résidu est traité à nouveau par l'acide chlorhydrique pur et évaporé à sec pour éliminer la silice.

On répète une troisième fois cette opération pour insolubiliser la totalité de la silice et on reprend alors le résidu par quelques gouttes d'acide chlorhydrique et de l'eau distillée chaude.

Après filtration, la silice reste sur le filtre qui est lavé à plusieurs reprises avec de l'eau acidulée chaude.

Le filtrat, fortement acide, et qui, entre autres métaux, contient le Zinc, est traité par H^2S pour précipiter le Cuivre à l'état de sulfure. Le sel de Zinc ne se précipite pas par l'hydrogène sulfuré en présence d'acides minéraux.

On filtre le précipité du $S\ Cu$, qui est ensuite lavé à plusieurs reprises avec de l'eau acidulée saturée d'hydrogène sulfuré. Le filtrat est évaporé au bain-marie jusqu'à siccité, pour chasser l'hydrogène sulfuré et l'excès d'acide. Le résidu de l'évaporation est repris avec une petite quantité de solution d'acide chlorhydrique, de concentration connue, et la solution ainsi obtenue est recueillie dans une burette.

Pour précipiter le Fer en solution, on verse goutte à goutte le contenu de cette burette dans un récipient contenant une quantité suffisante de solution ammoniacale pure jusqu'à ce que, l'acidité du milieu étant saturée, il reste environ 4 M d'ammoniaque libre, soit environ 20 % de solution ammoniacale.

On rince la burette avec de l'eau, en prenant bien soin de ne pas trop diluer la concentration d'ammoniacque. L'utilisation d'un grand excès d'ammoniacque est indispensable pour éviter la formation d'hydrate de Zinc, qui se précipite en présence d'ammoniacque, et qui entre en solution quand il y a un excès de cette base.

Pour péroxyder le Manganèse et assurer sa précipitation totale, nous avons ajouté quelques gouttes d'eau oxygénée à l'ammoniaque. Pour précipiter le phosphate alcalin, on ajoute également, avant la précipitation du Fer, un peu de lait de chaux. Dans la solution ammoniacale il se forme un précipité blanc, ou coloré par l'oxyde de Fer ou brun par le Manganèse.

Après vingt-quatre heures de contact, nous avons séparé le précipité de la solution ammoniacale par centrifugation. Après la séparation de la solution, le précipité est lavé à plusieurs reprises avec de l'eau ammoniacale et cette eau de lavage est ajoutée à la solution : le précipité est redissous dans l'acide chlorhydrique.

On recommence la précipitation par l'ammoniaque. Une deuxième centrifugation est effectuée pour séparer le précipité de la solution ainsi obtenue. Les liqueurs ammoniacales sont recueillies dans un ballon de 1 litre en Pyrex.

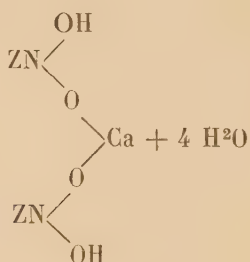
La solution ammoniacale contient le Zinc, la chaux et divers autres éléments.

Nous avons introduit dans le ballon une certaine quantité de lait de chaux avec une goutte de phénolphtaléine et porté à l'ébullition. Cette opération est prolongée jusqu'à ce que l'ammoniaque soit totalement volatilisé. Si le liquide se décolore pendant l'ébullition, ce qui indique qu'il n'y a plus de chaux libre, on ajoute à nouveau du lait de chaux jusqu'à ce que l'ébullition prolongée ne provoque plus la décoloration de la liqueur.

On vérifie de temps à autre, au moyen du papier tournesol, si la vapeur s'échappant de la fiole ne contient plus d'ammoniaque. Cette vérification est absolument indispensable.

En effet, si la solution renferme encore de l'ammoniac, tout ou partie du Zinc reste en dissolution.

Au contraire, quand tout l'ammoniac est volatilisé, la totalité du Zinc donne, en présence de chaux, un précipité de zincate de calcium répondant à la formule :



Après s'être assuré qu'il n'y a plus trace d'ammoniac, l'ébullition est arrêtée, puis on laisse refroidir le liquide dans le filtre. Le filtre et la fiole sont lavés à l'eau de chaux. Le résidu est dissous sur le filtre avec de l'acide chlorhydrique à 10%. La solution est recueillie dans la fiole qui avait servi primitivement pour la précipitation du zincate, afin de récupérer les cristaux microscopiques de zincate de calcium qui pourraient éventuellement être restés adhérents aux parois de la fiole. Le filtre est lavé à plusieurs

reprises avec de l'acide chlorhydrique à 10 %. On emploie de l'acide en excès.

Après dissolution du zincate de calcium, le liquide doit contenir au moins 50 % d'acide libre.

La solution obtenue est saturée avec de l'hydrogène sulfuré. On bouche la fiole et on laisse déposer pendant vingt-quatre heures. Après avoir filtré, le filtre est lavé avec de l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique et saturée avec de l'hydrogène sulfuré.

Le petit résidu brun ou noir, insoluble, est constitué par du sulfure de cuivre et des traces de sulfure de platine. Ces dernières sont apportées par le lait de chaux, car nous avons toujours employé une capsule de platine pour la préparation de la chaux par calcination de nitrate.

La solution est transvasée dans une capsule de porcelaine et évaporée à siccité au bain-marie. Le résidu est repris avec un peu d'eau, et neutralisé avec du bicarbonate de sodium. La solution est acidifiée avec de l'acide citrique, car les sulfures de cobalt et de nickel ne peuvent pas se précipiter par l'hydrogène sulfuré dans un milieu faiblement acide, tandis que la précipitation du Zinc à l'état de sulfure est totale. Il faut tenir compte que, dans l'analyse des matières biologiques, le zincate de calcium est toujours accompagné de traces de cobaltate et de nicke-
late de calcium. La solution acidulée par l'acide citrique est saturée par l'hydrogène sulfuré pendant une demi-heure environ. La fiole est bouchée et

abandonnée pendant vingt-quatre heures au moins. Il se forme alors un précipité blanc de sulfure de Zinc, qui est recueilli sur un filtre BERZELIUS, aussi petit que possible.

La fiole, le litre et le résidu sont lavés à plusieurs reprises avec de l'eau saturée d'hydrogène sulfuré et acidulée par l'acide formique ou citrique. Le but de ce lavage est d'éliminer les sels de calcium provenant du zincate et qui, absorbés par le papier, pourraient fausser les résultats du dosage. Il est donc absolument indispensable de vérifier, en laissant tomber quelques gouttes des dernières eaux de lavage dans une solution d'oxalate d'ammoniaque, qu'elles ne contiennent pas de calcium.

Cette filtration doit être faite très rapidement et à l'abri de l'air. Pour cela, l'entonnoir est recouvert d'un verre de montre afin d'éviter ainsi, dans la mesure du possible, les pertes pouvant résulter de l'oxydation du sulfure de Zinc. Une telle oxydation serait d'ailleurs bien facilement décelable car, sous l'influence de l'oxygène de l'air, le sulfure insoluble se transforme en sulfate soluble qui serait entraîné à travers le filtre. La solution, en venant au contact du filtrat saturé d'hydrogène sulfuré, reformerait du sulfure de Zinc, de sorte qu'il serait absolument impossible d'obtenir un filtrat limpide, même par des filtrations répétées. On dissout le sulfure sur le filtre avec de l'acide sulfurique à 5 % chaud et on lave le filtre plusieurs fois avec de l'eau chaude.

On reçoit la solution dans une capsule en platine

préalablement lavée, puis on évapore au bain-marie jusqu'à ce que l'eau soit entièrement volatilisée. On chauffe directement sur la flamme d'un bec Bunzen pour chasser l'excès d'acide sulfurique. On pèse le résidu, d'une blancheur éclatante, qui est constitué par du sulfate du Zinc anhydre, dont le poids multiplié par 0.4052 donne le poids correspondant de Zinc métallique. Ce résidu doit être complètement soluble dans l'eau. S'il ne l'est pas, c'est qu'une partie du sulfate de Zinc, aurait été transformée, au cours de la calcination, en sulfate basique.

Pour s'assurer que le résidu est bien constitué par du Zinc on a recours à la réaction suivante: Formation d'un précipité blanc de sulfure de Zinc en traitant la solution neutre de sulfate par l'hydrogène sulfuré.

C'est par cette méthode que nous avons dosé le Zinc dans les cadavres de nos Souris blanches. Les résultats sont donnés dans le tableau ci-après :

Souris avec Zinc.

	Poids à la mort		Teneur en eau %	Sulf. anhydre de Zinc trouvé en mgr.	Teneur en Zinc en mgr.	Teneur en Zinc pour 100 de matière fraîche
	Poids frais en gr.	Poids sec en gr.				
Série G :						
N° 1.....	6,400	1,726	71,7	0,8	0,32	5,2
N° 2.....	8,700	1,970	77	1,2	0,48	5,5
Série H :						
N° 1.....	11	2,521	77	0,9	0,936	3,3
N° 2.....	—	—	—	—	—	—
Série K :						
N° 1.....	9,790	2	80	1,1	0,44	4,5
N° 2.....	9,850	2,1	79	1	0,4	4,1
N° 3.....	9,900	2,31	76	0,9	0,36	3,6
N° 4.....	—	—	—	—	—	—
Série L :						
N° 1.....	9	2,19	75,6	0,8	0,32	
N° 2.....	9,10	2,20	75,8	0,9	0,36	
N° 3.....	9,670	2,236	76,3	1	0,4	
Série M :						
N° 1.....	8,600	1,9	77	0,8	0,32	3,7
N° 2.....	—	—	—	—	—	—
N° 3.....	—	—	—	—	—	—
Souris normale						
N° 1 :						
15 jours après se- vrage.....	11	2,256	79	0,98	0,32	2,9
N° 2 :						
30 jours après se- vrage.....	13	2,85	76	1	0,40	3

Ce tableau démontre que les tissus des Souris au régime zincique contiennent de 2, 2 à 3, 2 mgr. de Zinc.

Les Souris au régime normal ont une teneur en Zinc qui se range entre les d

Souris sans Zinc.

Poids à la mort		Teneur en eau %	Sulfate anhydre trouvé en mgr.	Teneur en Zinc en mgr.	Teneur en Zinc pour 100 gr. de matière fraîche
Poids frais en gr.	Poids sec en gr.				
6,600	1,492	77,3	0,5	0,2	3,2
6,200	1,331	78,5	0,5	0,2	3,2
9,700	2,511	74,1	0,7	0,28	2,8
7	1,620	75,1	0,4	0,16	2,2
7,600	1,65	79	0,6	0,24	3,1
5,800	1,26	78	0,5	0,2	3,4
7,800	1,700	78	0,6	0,24	3,0
9,200	1,954	78	0,6	0,24	2,6
9,300	1,97	78	0,6	0,24	2,5
9,200	2,17	76	0,7	0,28	3,0
7,700	1,61	99	0,5	0,2	2,5
9,200	2	76	0,7	0,26	3

2 mgr. de Zinc %, alors qu'avec le régime sans Zinc nous n'avons trouvé que de
 bries, comme BERTRAND et BENZON l'ont déjà signalé :

Conclusions et interprétation des résultats.

Les résultats de nos expériences démontrent nettement l'influence favorable du Zinc sur la croissance et le maintien de la vie.

D'autre part, il résulte de nos travaux que les vitamines seules, c'est-à-dire en l'absence du Zinc, ne suffisent pas pour assurer le développement et le maintien de la vie.

Le Zinc sans vitamines, pas plus que les vitamines sans Zinc, ne possèdent d'action favorisante sur la croissance et la vie.

Ce fait suggère l'idée que l'association de ces deux facteurs forme le système actif et que le Zinc pourrait être le complément des vitamines.

Notre régime synthétique contenait différentes vitamines.

Nous nous sommes alors demandé laquelle de ces vitamines était en corrélation avec le Zinc.

Dans nos expériences, deux vitamines seules pouvaient être en corrélation avec le Zinc et considérées comme étant les facteurs de croissance. Ce sont les vitamines A et B².

En effet, nous n'avons pas employé la vitamine C

et, d'autre part, la vitamine D ne peut être considérée comme un facteur de croissance, étant donné que son absence ne provoque ni l'amaigrissement ni la mort.

En ce qui concerne la vitamine A, nous allons d'abord considérer le mécanisme de son action.

Le développement (augmentation de poids sous l'influence de la vitamine A, ou carotène, est certainement un processus secondaire), l'action primaire étant un processus synthétique spécial que nous allons étudier en premier lieu.

L'absence de vitamine A, ou carotène, dans le régime provoque, en dehors de l'arrêt de la croissance, la Xérophtalmie, maladie caractérisée par la dégénérescence de la muqueuse des yeux.

La kolpokératose est également due à la carence de cette vitamine, fait qui a été démontré par HOHLWEY et DOHRN (104), KLUSSMANN et SIMOLA (105).

La dégénérescence des muqueuses vaginales est la caractéristique de cette maladie.

Ces deux faits indiquent que le mécanisme de l'action des vitamines A est lié à un processus synthétique favorisant la régénérescence normale de la cellule des muqueuses.

MANTHNER, CRAMER, KINGSBERRY et MELLAMBY (106) ont démontré l'existence d'une corrélation entre la carence en vitamines A et la diminution du pouvoir de résistance de la cellule contre les infections bactériennes.

Mais il ne s'agit là que d'un fait secondaire, la cause

principale étant l'absence de la régénération normale de la cellule.

L'introduction de vitamines A, ou carotène, dans le régime, ne provoque pas l'apparition d'anticorps dans le système animal, fait qui est en faveur de notre point de vue.

Le processus synthétique provoqué dans l'organisme sous l'influence des vitamines A est analogue à celui de la régénération des cellules de la muqueuse.

La régénération des tissus, ou cellules, sous l'influence des vitamines A, peut être observée dans les différents organes en voie de croissance.

Le développement (augmentation de poids) des animaux est certainement le résultat de la régénération normale et de la multiplication des cellules.

La régénération de la cellule est un processus lié à la synthèse des nucléo-protéides et à la croissance des noyaux, d'où il résulte que le mécanisme de l'action vitaminique A est lié à la synthèse des nucléo-protéides et à la croissance des noyaux.

D'autre part, les travaux de DELEZENNE et MOREL ont démontré que le Zinc jouait un grand rôle dans la production des nucléosides de l'acide nucléique sous l'action du venin de serpent.

G. BERTRAND et VLADESCO (107), G. BERTRAND et BENZON, ont constaté que les cellules en voie de division des organes de reproduction sont plus riches en Zinc que celles des autres organes.

En présence de tous ces faits, sommes-nous justi-

fiés à admettre que le Zinc peut être un co-facteur dans le système des vitamines A ?

La seule objection que l'on puisse faire est que la xérophtalmie, qui est la maladie caractéristique de l'avitaminose A, ne s'est pas produite chez nos animaux.

Toutefois, nous n'avons pas observé non plus cette maladie dans notre expérience préliminaire, qui comportait cependant un régime complètement carencé en vitamine A.

G. BERTRAND et BENZON, qui utilisent un régime dépourvu de vitamines A, n'ont pas observé de xérophtalmie, sauf dans un cas où l'animal vécut anormalement soixante-dix-huit jours sans vitamines et sans Zinc. Il présentait des signes de xérophtalmie tardive au bout de cette période.

Ces résultats peuvent laisser supposer que la xérophtalmie ne se produit pas chez les jeunes Souris soumises à un régime complètement dépourvu de toutes les vitamines, sauf dans les rares cas où elles vivent longtemps.

FREISE, GOLDSCHMIDT et FRANK, BULLY, OSBORNE et MENDEL (108), ont établi que la xérophtalmie se produit plus tardivement chez les jeunes animaux.

De ce fait, nous pouvons penser que la xérophtalmie serait apparue chez nos jeunes Souris, si elles n'étaient mortes prématurément, probablement par avitaminoses A et B combinées.

Mc COLLUM (109), SIMONDS, BECKERS, en modifiant la

composition minérale du régime, ont pu obtenir la guérison de la xérophtalmie.

Ne peut-on expliquer cette intéressante constatation en admettant que la modification de la composition minérale du régime, en changeant la concentration en Zn, favorise l'activation de la vitamine A présente dans l'organisme, provoquant ainsi la guérison ?

Si on admet cette explication, on a une preuve directe du rôle du Zinc comme co-ferment de la vitamine A.

Nous allons considérer maintenant la vitamine B², ou vitamine d'utilisation nutritive.

Le mécanisme de cette vitamine est expliqué par Mme RANDOIN et SIMONNET (110), en partant de l'hypothèse que l'absence des vitamines B² produit certaines substances toxiques résultant de la désintégration des glucides non utilisés.

Cette hypothèse est basée sur le fait que ces auteurs ont observé qu'il existe un rapport entre l'utilisation des glucides et la présence des vitamines B².

Ils expliquent les crises de polynévrite en admettant l'action de ces substances toxiques sur le système nerveux animal.

Quant à la diminution de poids dans l'avitaminose, ces auteurs pensent qu'elle est due à l'inanition provoquée par le défaut d'utilisation des glucides.

Mais la polynévrite et la perte de poids ne sont que des faits secondaires.

Il faut chercher ailleurs la cause primordiale de l'avitaminose.

En effet, ces auteurs admettent que l'absence de vitamines B² diminue la capacité d'oxydation des tissus, sans toutefois expliquer le mécanisme de ce phénomène.

La constitution chimique de cette vitamine n'est pas encore connue, aussi il est difficile d'envisager de quelle façon la présence de vitamines B² peut favoriser le processus de l'oxydation.

M. G. BERTRAND a déjà établi que le Manganèse joue un rôle important comme co-ferment dans le processus d'oxydation biologique.

Nous n'avons aucune preuve que le Zinc joue également un rôle dans le processus d'oxydation et nous sommes obligé de réserver notre opinion à ce sujet.

Toutefois, il est possible que le Zinc agit simplement comme un élément catalytique dans la réaction chimique provoquée par les vitamines.

En ce qui concerne le mécanisme de l'action de la vitamine B¹, ou vitamine anti-névritique, nous devons considérer ce qui se passe dans l'avitaminose B¹, c'est-à-dire, en dehors de l'abaissement du poids, des troubles nerveux se traduisant par l'apparition de polynévrite.

Quelle est la cause de ces troubles nerveux?

HESSE a établi l'analogie entre l'avitaminose B¹ et l'intoxication due à l'acide cyanhydrique, qui provoquent toutes deux la polynévrite.

Il émit alors l'hypothèse que c'est l'insuffisance

respiratoire des tissus qui est à l'origine des symptômes visibles de polynévrite.

On admit alors que les tissus des animaux soumis à un régime carencé se trouvent dans un état tel que, pourvus de substances oxydables et ravitaillés en oxygène, ils n'arrivent plus à effectuer les combustions habituelles, soit qu'une diastase ou un co-ferment leur fasse défaut.

L'apparition de polynévrite par un régime carencé en Zinc ou en vitamines B¹ d'une part, et la guérison ou la non apparition de polynévrite avec un régime contenant ces deux facteurs d'autre part, ne suggère-t-elle pas l'idée qu'il s'agit ici d'un système actif contenant deux facteurs différents : Zinc et vitamine B¹, dont l'un est le complément de l'autre?

En effet, il existe un rapport entre la présence du facteur B¹ et Zn : chez les êtres vivants, partout où l'on trouve la vitamine B¹, on trouve le Zn.

FINDLAY (115) trouva qu'il existe un certain parallélisme entre la richesse en vitamines B et l'acide nucléique. Il exprima l'opinion que la vitamine B est un facteur nécessaire pour la synthèse de l'acide nucléique. D'autre part, nous connaissons le rôle du Zinc dans la synthèse de l'acide nucléique, par les travaux de DELEZENNE.

Ces deux faits permettent de comprendre comment la croissance de l'animal est assurée par l'action combinée du Zinc et de la vitamine B¹.

L'amaigrissement dû aux régimes carencés, soit en Zinc, soit en vitamines, d'une part, la croissance

normale lorsque le régime contient ces deux facteurs, d'autre part, ne suggère-t-elle pas ici encore l'idée qu'il s'agit d'un système actif où les deux facteurs se complètent l'un l'autre ?

Mme RANDOIN (117) fait observer que le parallélisme entre la richesse en vitamines B¹ et la teneur en acide nucléique est une simple coïncidence.

Si on admet que la fonction de la vitamine B¹ est la synthèse de l'acide nucléique, la quantité de facteur B¹ devrait décroître avec le ralentissement du développement de l'animal, ce qui n'est pas le cas.

Cette objection ne tient plus si on considère que la vitamine B¹ ne possède pas qu'une seule fonction dans l'organisme animal. Nous en avons déjà décrit deux très distinctes.

Le fait, établi par G. BERTRAND et VLADESCO, que les organes reproducteurs et les glandes mammaires sont riches en Zinc pendant leur activité fonctionnelle, d'une part, et le fait, constaté par DRUMMOND, que les animaux carencés en vitamine B¹ deviendraient stériles, d'autre part, ne suggèrent-ils pas l'idée que, même dans les phénomènes de reproduction, le rôle de la vitamine B¹ est lié à celui du Zinc ?

Le rôle important de la vitamine B¹ dans la glande endocrinienne est aujourd'hui nettement établi par les travaux de FUNK et DOUGLAS, SWOBODA (116) et LOMBA (117).

Fait curieux, G. BERTRAND et VLADESCO ont démontré également que les organes qui jouent un

rôle important dans les sécrétions internes sont relativement riches en Zinc.

En présence de ces faits, on peut se demander s'il n'existe pas aussi une corrélation entre le Zinc et la vitamine B¹ dans les phénomènes de reproduction.

Cette question ne rentre pas dans le cadre de nos expériences.

Dans la nature, la vitamine B¹ est toujours associée au Zinc.

Bien que les animaux utilisent ces deux facteurs en même temps, nous ne savons pas sous quelle forme se trouve le Zinc. Il n'est pas possible de se faire une opinion, tant que la constitution chimique des vitamines B ne sera pas établie.

Devant l'incertitude de la constitution chimique des vitamines B et leur nature spéciale, il est assez difficile de mettre directement en évidence le fait que le Zinc est un co-ferment des vitamines ainsi que G. BERTRAND a pu le démontrer dans le cas du Manganeèse avec le laccase.

Toutefois la mort prématurée des animaux, précédée par des crises de polynévrite, sous l'influence du régime vitaminé sans Zinc, d'une part, et la prolongation de la vie lorsque l'on ajoute du Zinc, d'autre part, établit définitivement que ce dernier est un co-facteur des vitamines A et B².

DEUXIÈME PARTIE

Elimination du Zinc.

Recherches antérieures.

HELPUF (111) a constaté que les sels du Zinc, dans les cas d'intoxication par ce métal, s'éliminent par l'urine en produisant de l'albuminurie, lorsqu'ils sont injectés sous la peau.

KOBERT (112) n'a pas pu confirmer cette observation, mais il soutient néanmoins qu'on peut trouver le Zinc dans les matières vomies.

FALEK et HARNIER (113) ont constaté que le Zinc s'élimine par la bile et par le lait.

D'après MAZKEWITZ, (114) ce métal s'élimine par la muqueuse stomacale.

MM. G. BERTRAND et VLADESCO, en injectant les sels du Zinc dans les veines, ont constaté, après dosage, que l'élimination du Zinc tend à s'effectuer par toutes les voies, mettant l'organisme animal en relations avec le milieu extérieur.

D'après ces auteurs, les voies d'élimination les plus importantes sont l'intestin, les reins, la peau.

Recherches personnelles.

Toutes les recherches faites antérieurement pour mettre en évidence les voies d'élimination du Zn ont été effectuées dans des conditions anormales.

Nous avons entrepris d'étudier ce phénomène d'élimination dans des conditions normales, par le dosage du Zinc dans les muscles et les muqueuses de la langue et dans les muscles du cou (pour avoir un terme de comparaison) de 4 animaux appartenant à quatre espèces différentes : Bœuf, Cheval, Porc et Mouton.

Méthode de dosage du Zinc.

La méthode que nous avons employée est celle de BERTRAND-JAVILLIER. Mais, en raison d'une observation curieuse que nous avons faite, nous avons été amené à la modifier légèrement.

Dans les dernières étapes de la méthode du zincate de calcium de BERTRAND-JAVILLIER, on précipite le sulfure de Zinc d'une solution acidulée par l'acide citrique au moyen de l'hydrogène sulfuré. Ce milieu citrique est important pour éviter en même temps la précipitation du Nickel et du Cobalt, qui sont toujours associés au Zinc dans les échantillons biologiques.

Nous avons remarqué, au cours de nos dosages, que, pendant la précipitation du sulfure de Zinc, qui est blanc, le citrate tricalcique, blanc également, se dépose aussi.

Il est compréhensible que, dans les cendres contenant de grandes quantités de phosphates, on soit obligé d'utiliser une forte proportion de lait de chaux pour précipiter tous les phosphates. Cet excès de calcium provoque la formation du précipité de citrate tricalcique.

Pour séparer le citrate de calcium du sulfure de Zn, nous sommes passé par le carbonate d'abord, puis par le chlorure. Finalement, nous avons précipité le Zn dans le milieu acétique (Ni et Co étant déjà éliminés en milieu citrique).

Les détails de notre technique sont les suivants :

Nous avons filtré le précipité du sulfure de Zinc et du citrate tricalcique, après plusieurs lavages avec de l'eau saturée d'hydrogène sulfuré et acidulée par l'acide citrique. Le précipité, qui est débarrassé de la totalité du Nickel et du Cobalt, est desséché à 100°. Ensuite, pour transformer le citrate en carbonate, on le chauffe très doucement dans une capsule (au-dessous du rouge sombre) afin d'éviter la perte de Zinc par volatilisation.

Le chauffage modéré transforme en oxyde le sulfure de Zinc et en carbonate le citrate.

Après s'être assuré que tout le citrate est transformé en carbonate, on reprend le contenu de la capsule avec un peu d'acide chlorhydrique pur. On évapore à sec ; on reprend le chlorure avec un peu d'ammoniaque et l'on acidifie le milieu avec de l'acide acétique.

On précipite alors le sulfure de Zinc par l'hydro-

gène sulfuré. On recueille le précipité et, après lavage, on le transforme en oxyde, puis on le pèse, comme dans la méthode originale.

Pour vérification, on reprend une fois encore, avec de l'eau, l'oxyde pesé et, cette fois, on précipite le Zinc dans le milieu citrique par l'hydrogène sulfuré. On recueille le précipité qu'on transforme en oxyde, puis on pèse.

Les deux pesées doivent donner le même poids, ce qui était le cas pour nos dosages.

Nous donnons les résultats ainsi obtenus dans les tableaux suivants :

Teneur en Zinc exprimée en milligrammes pour 1 kgr. de matière fraîche.

	Bœuf	Cheval	Porc	Mouton
Muqueuse de la langue..	12,09	16,2	14	18,8
Muscle de la langue	8,3	10	11	13,9
Muscle du cou.....	1,5	2	1,6	2,5

Teneur en Zinc exprimée en milligrammes pour 1 kgr. de matière sèche.

	Bœuf	Cheval	Porc	Mouton
Muqueuse de la langue..	44,2	71	47,3	73
Muscle de la langue	24,9	28,6	36,7	43,5
Muscle du cou.....	6,1	9,9	8	10,4

Conclusions et Interprétation.

I. — La muqueuse et le muscle de la langue sont beaucoup plus riches en Zinc que le muscle du cou.

II. — La muqueuse de la langue est plus riche que le muscle correspondant.

Cette richesse de la muqueuse en Mn, Sn, Pb, Zn, signifie que la langue a une fonction d'élimination qui s'effectue par le renouvellement constant de la muqueuse linguale.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Wohler*. — An. de Chim. et Phys., 1828, XXXVIII, p. 330.
2. *Liebig*. — 1854. Nouvelles lettres sur la Chimie.
3. *Payen et Persoz*. — Ann. Chem. Phys., t. LVI, p. 337.
4. *Bertrand (G.)*. — C. R., 122, 1896, p. 1132.
5. *Bertrand (G.)*. — C. R., 154, 1912, p. 616 et 152, 1911, p. 225.
6. *Bertrand et Javillier*. — C. R., 152, 1911, p. 1337.
7. *Javillier*. — C. R., 154, 1912.
8. *Bertrand et Nakamura*. — C. R., 179, p. 129.
9. *Bertrand et Vladesco*. — C. R., 112, p. 678, 173, p. 54.
Thèse Paris, 1921.
10. *Bertrand et Benzon*. — Thèse Paris, 1923.
11. *Bertrand et Medigricenau*. — Annales Institut Pasteur, 1913, p. 1, 23.
12. *Bertrand et Ciurea*. — C. R., 192, 1931, p. 990.
13. *Bellingrodt*. — Jahresberichte, 1854, p. 359.
14. *Forshammer*. — Phil. Trans. Roy. Soc., 1865, t. CLV, p. 203.
15. *Lecharetier et Bellamy*. — C. R., 1877, 84, p. 687.
16. *Javillier*. — Thèse Paris, 1908.
17. *Birkner*. — Jour. of Biol. Chem., 38, 1919.
18. *Bertrand et Benzon*. — Thèse Paris, 1923.

19. *Hubbel et Mendel.* — Journ. of Biol. Chem., 75, 1927, p. 567.
20. *Bertrand et Andreitcheva (Mlle)* — C. R., 197, 1933.
21. *Ghigliotto.* — Voir 26.
22. *Lecharetier et Bellamy.* — C. R., 84, 1877.
23. *Rault et Breton.* — C. R., 85, 1877, p. 40.
24. *Bradeley.* — Science 1904 (Ann. J. Physiol., XIV, 1905).
25. *Van Itallie et Van Eycke.* — Cours de M. G. Bertrand.
26. *Ghigliotto.* — Annales des falsifications et des fraudes, 123-124, 1919.
27. *Birkner.* — Journ. of Biol. Chem., 38, 1919.
28. *Elliot.* — Cours de M. G. Bertrand.
29. *Giaya.* — Thèse (Pharmacie). Paris, 1921.
30. *Bertrand et Vladesco.* — Thèse Paris, 1921.
31. *Raulin.* — Thèse Paris, 1870.
32. *Knop.* — Landwirth. Vers-Stat, 7, 9, 1860.
33. *Gorup et Bisanz.* — Ann. d. Chem. u. Phar., 127, 1863, p. 243.
34. *Reichhardt.* — Ann. d. Landwirth, 50, p. 235, 1867.
35. *Freitag.* — Vierteljahresschrift. f. Prakt. Pharm., 19, 1870, p. 19.
36. *Coupin.* — C. R., 136, p. 392, 1903.
37. *Javillier.* — C. R., 146.
38. *Mazé.* — Ann. Inst. Past., 1914, Jan.
39. *Lepierre.* — C. R., 156, 1913, p. 258, 409, 1179, 1489.
40. *Javillier.* — Annales Inst. Past.
41. *Javillier.* — Procès-verbaux des séances de la Soc. Chim. d. France, 21 déc. 1927.
42. *Delezenne.* — Thèse Paris, 1919 (Annales Inst. Past., 1919).
43. *Delezenne et Morel.* — C. R., 168, 1919.

44. *Mc Hargue*. — *Am. J. Physiol.*, 1926, LXXVII, 245.
45. *Hubbel et Mendel*. — *Journ. Biol. Chem.*, 75, 1927, p. 567.
46. *Bertrand et Benzon*. — Thèse Paris, 1923.
47. *Bertrand et Nakamura*. — *C. R.*, 185, 1927, p. 321.
48. *Osborne et Mendel*. — *Jour. Biol. Chem.*, 34, 149-163, 63, 233-238.
49. *Mc Collum et Davis*. — *Jour. Biol. Chem.*, 23, 247-254.
50. *Holst et Fröhlich*. — *Journ. Hyg.*, 7, 634-671 (*Zeits. Hyg. Imft.*, 72, 1-120).
51. *Funk*. — *Emgeb. Physiol.*, 13, 125-205. *Die Vitamine*.
52. *Mellanby*. — *Jour. Physiol.*, 52, *Proceed*, LIII.
- 52 bis. *Dieulafait*. — *C. R.*, 1880, t. 90.
53. *Bertrand et Javillier*. — *C. R.*, 143, p. 900, *C. R.*, 145.
54. *Randoin (Mme) et Lecoq*. — *C. R.*, 184, 1927, p. 1347, 185, 1927, p. 1068.
55. *Randoin (Mme) et Simmonet*. — *C. R.*, 195, 1932, p. 827, 1184.
56. *Funk et Dubin*. — *Science*, 1920, 52, 447.
57. *Funk, Collaza et Kaczmareck*. — *C. R. Soc. Biol.*, 1925, 92, 997.
58. *Lecoq*. — *C. R.*, 196, 1930, 2033.
59. *Funk*. — *Zeits. f. Physiol. Chem.*, 89, p. 378.
60. *Evans et Lepkowski*. — *Jour. Biol. Chem.*, 96, 1932, p. 165.
61. *Burr et Burr*. — *Jour. Biol. Chem.*, 1932.
62. *Evans et Lepkowski*. — *Jour. Biol. Chem.*, 96, 1932, p. 165.
63. *Evans et Lepkowski*. — *Jour. Biol. Chem.*, 96, 1932, p. 165.
64. *Lecoq*. — *C. R.*, 196, 1933, 2033.
65. *Randoin (Mme) et Lecoq*. — *C. R.*, 188, 1929, 1188.

66. *Mitchell et Vaughan*, 1927.
67. *Bertrand et Nakamura*. — C. R., 179, p. 129.
68. *Bertrand et Benzon*. — Thèse. 1923, Paris.
69. *Lunin*. — Zeits. Physiol. Chem., 5, 31-39.
70. *Höpkins*. — Jour. Physiol., 49, 425-460.
71. *Mc Collum et Davis*. — Jour. Biol. Chem., 23, 241-245.
72. *Osborne et Mendel*. — Jour. Biol. Chem., 34, 149-163.
73. *Eijkman*. — Genesk. Tidschr. Ned. Ind., 30, 1893, 32, 1896.
74. *Funk*. — Ergeb. Physiol., 13, 125-205, Die Vitamine.
75. *Osborne et Mendel*. — Jour. Biol. Chem., 63, 233.
76. *Mc Collum et Davis*. — Jour. Biol. Chem., 27, 181-230.
77. *Randoin (Mme) et Lecoq*. — Les vitamines par Mme Randoin.
78. *Hauge et Carrick*. — Cité par Mme Randoin.
79. *Randoin (Mme) et Lecoq*. — Cité par Mme Randoin.
80. *Mellanby*. — Med. Res. Council Special Report Series, 1921, n° 61.
81. *Huldschinsky*. — Deutsch. Med. Woch., 45, 712-713.
82. *Windaus*. — Tschesche et al, Nachr. Gess. Wiss. Goettingen, 207, 1931 (Jour. Physiol. Chem., 204, 123-128).
83. *Drummond*. — Biochemical Journal, 15, 540-552.
84. *Takahashi*. — Jour. Chem. Soc. Japan, 43, 828 (Annales in Physiol. Abs., 8, 257).
85. *Von Euler*. — Helvetia Chimi. Acta, vol. XV, p. 493, vol. XIV, p. 1040.
86. *Steenbock*. — Science, 1919, t. L, p. 352.
87. *Moore*. — Lancet, 1929, t. I, p. 499 (Bioch. Jour., 1929, t. XXIII, p. 803, 1267).
88. *Von Euler*. — Biochem. Zeits, 1928, t. CCIII, p. 370 (Hel. Chim. Acta, 1929, t. XII, p. 278).

89. *Karrer* — Deutsch. Chem. Ges., 1929, t. LVI, p. 223 (Helv. Chim. Acta, vol. XIV, p. 1036; vol. XV, p. 1158, vol. XVI, p. 975, vol. XII, p. 142).
90. *Javillier*. — Soc. Chem. Biol., I, 4, 30 (Conférence) (C. R., 190, 1930, p. 655).
91. *Pénau*. — C. R., 193, 1931, p. 209 (Bull. Soc. Chim. Biol., 13, n° 3, 616-633, 1931).
92. *Bailly* — Bull. Soc. Chim. Biol., 14, 1932, p. 623.
93. *Funk*. — Die Vitamine.
94. *Jansen*. — Med. Dienst. Volksgazondheit Ned. Indie, Part I, 1927.
95. *Seidell*. — Jour. Am. Chem. Soc., 55, 3380, 1933.
96. *Tanret*. — 1889.
97. *Rosenheim* et *Webster*. — Conférence internationale de Londres sur l'étalonnage des vitamines, 1930.
98. *Fabre*. — Cité par Mme Randoïn.
99. *Tanret* et *Simmonet*. — C. R., 25. Séance, 23 juin 1930. -
100. *Liesne*. — II^e Congrès International de Pédiatrie. Stockholm, 1930
101. *Hess*. — II^e Congrès International de Pédiatrie. Stockholm, 1930.
102. *Beaudoin*. — Thèse Paris. 1930.
- 102 bis. *Prieur (Mlle)*. — Thèse Paris. 1929.
103. *Van Name* et *Fenwick*. — Jour. Am. Chem. Soc., 1925, XLIV, 2504.
104. *Hohlway* et *Dohrn*. — Zeits. Ges. Exp. Med., 71, 762, 1930.
105. *Klussmann* et *Simola*. — Biochem. Zeits., 258, 1933, 194.
106. *Manthner*, *Cramer*, *Kingsbury* et *Mellanby*. — Cité par Mme Randoïn.

107. *Bertrand* et *Benzon*. — Thèse Paris. 1923.
108. *Osborne* et *Mendel*. — Jour. Am. Med. Assoc., 76, 905-908.
109. *Mc Collum* et *Collaborateur*. — Jour. Biol. Chem., 63, 547-552.
110. *Randoin* (*Mme*). — Les vitamines.
111. *Helpup*. — Disst. Greiswald, 1889.
112. *Kobert*. — Lehrbuch d. Intoxicationen.
113. *Falenk* et *Harnier*. — Cité par Kobert
114. *Makewitz*. — Disst. Petersburg, 1878.
115. *Findlay*. — Cité par Sherman et Schmidt.
116. *Swoboda*. — Jour. Biol. Chem., 44, 1920, 531.
117. *Lomba*. — C. R., CLXXVI, p. 1249, 1913.
118. *Breaudat*. — Ann. Inst. Past., 1911, 25, 167-169.
119. *Suzuki*, *Shimmura* et *Odake*. — Biochemische Zeitschrift, 1912, t. 43, p. 89.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVANT-PROPOS.....	5
INTRODUCTION.....	7
Partie historique.....	17
Recherches personnelles.....	34
Notion des Vitamines.....	58
Résultats de nos expériences finales.....	67
Partie analytique.....	75
Conclusions et Interprétation des résultats.....	86
Elimination du Zinc.....	95
CONCLUSIONS ET INTERPRÉTATION.....	99
BIBLIOGRAPHIE.....	100

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Mécanisme d'action des venins des serpents

Vu et approuvé :

Paris, le 1^{er} mai 1934.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer:

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

